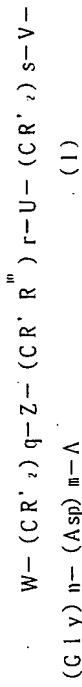


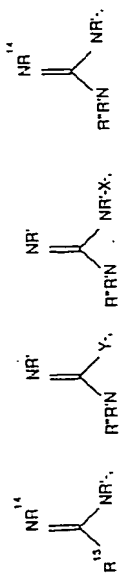
【特許請求の範囲】

1. 式(1)：



[式中、

WはR'R''N-, R'R''NR'N-, R'R''NR'NCO-, R'zN
R'NC(=NR')-, R'ONR'C(=NR')-,



または

(N) であり、

Zは(CH2)t, Het, Ar, C3-7シクロアルキルまたはNR'であり、
UおよびVは、独立して、存在しないか、またはCO, CR'z, C(=CR'
z), S(O)r, O, NR', CR'OR', CR'(OR'')CR'z, C
R'zCR'(OR''), C(O)CR'z, CR'zC(O), CONR', N
R'CO, OC(O), C(O)O, C(S)O, OC(S), C(S)NR'
NR'C(S), S(O)NR', NR'S(O)r, N=N, NR'NR'
NR'CR'z, CR'zO, OCR'z, C≡C, CR'=CR'またはCR'
(NR'R'')C(O)として存在し、

XはN=CR', C(O)またはOであり、

YはSまたはOであり、

mは0または1であり、

nは0または1であり、

qは0ないし3であり、

rは、各々、独立して0ないし3であり、

Sは0ないし2であり、

tは、各々、独立して0ないし2であり、

(19)日本国特許庁(JP) (12)公表特許公報(A) (11)特許出願公表番号
特表平8-505846
(43)公表日 平成8年(1996)6月25日

(51)Int.Cl.	識別記号	片内整理番号	FI
C07D 213/73		9164-4C	
A61K 31/195		9455-4C	
31/415	ABN	9454-4C	
31/425		9454-4C	
		9455-4C	

A61K 37/02
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 65 頁) 最終頁に続く

(71)出願人	(72)発明者	(74)代理人
スミスクライン・ビーチャム・コーポレイ ション アメリカ合衆国ペンシルベニア州19406- 0939、キング・オブ・ブルシア、スウェー ドランド・ロード709番、ビー・オー・ポ ツクス1539、ユー・ダブリュ・2220、コー ポレート・インテリクチュアル・プロパテ イ ボンディネル、ウィリアム・エドワード アメリカ合衆国ペンシルベニア州19087、 ウエイン、フランクリン・レーン1512番 井理士 青山 隆 (外1名)		

(54)【発明の名称】 血小板凝集阻害用化合物

(57)【要約】
本発明は血小板凝集の阻害に効果的な式(1)：W-
(CR'z)q-Z-(CR'1)^mR''-r-U-(CR'2)s
-V-(Gly)n-(Asp)^m-Aで示される化合物、そ
のような活性をもたらし阻集阻害物、および血小板凝
集の阻害法に関する。

(4)

R₂は存在しないかまたはC₁₋₁₁ アルキル、J-CO₂R'、CONR'、SR'、NR'R''、C₁₋₄ アルコキシ、ヒドロキシ、CN、CF₃、ハロ、または-CH₂-CH-CO₂R' R'-N-R''であり、

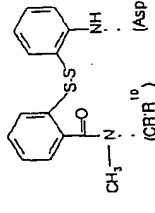
Jは単結合、-OCR'Z-、-NR'CR'Z-、CR'ZCR'Z-、-CR'Z-、-CR'=CR'-または-C(O)NR'CR'Z-であり、

Qは単結合、CR'Z、S、OまたはNR'であり、

DはC₁₋₄ アルキル、C₃₋₇ シクロアルキル、ArまたはHetを意味する；

ただし、

(1) Aが



である場合、

W-(CR'Z)q-Z-(CR'R''')r-は、H₂N-(CH₂)_{3,5}-CH-以外の基であり、

(2) Aが



または

である場合、

W-(CR'Z)q-Z-(CR'R''')r-はNHR'以外の基であり、および

(3) Aが



または

である場合、

W-(CR'Z)q-Z-(CR'R''')r-は、

(3)

R'は、各々、独立してH、C₁₋₁₁ アルキル、C₃₋₇ シクロアルキル-C₀₋₄、アルキルまたはAr-C₀₋₄ アルキルであり、

R''は、各々、独立してR'、-C(O)R'または-C(O)OR'であり、

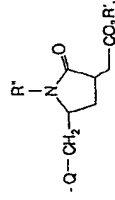
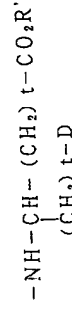
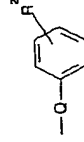
R'''は存在しないか、またはH、C₁₋₄ アルキルまたはNR'R'として存在し、

R¹⁰は、各々、独立してR'、CF₃、S'またはOR'であり、

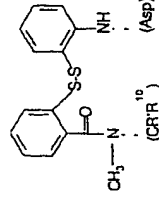
R¹⁴は、各々、独立してC₁₋₄ アルキル、C₃₋₇ シクロアルキル-C₀₋₄ アルキル、Ar-C₀₋₄ アルキル、C(O)R'、CN、NO₂、SO₂R'またはC(O)OR¹⁵、

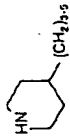
R¹⁵は、各々、独立してC₁₋₄ アルキル、C₃₋₇ シクロアルキル-C₀₋₄ アルキルまたはAr-C₀₋₄ アルキルであり、

Aは



または



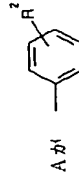


以外の基である]

で示される化合物またはその医薬上許容される塩。

2. ZがHetまたは $(CH_2)_n$ であり、

m, n および q が、各々、0 であり、



であり、

である請求項 1 記載の化合物。

3. ZがHetであり、Wが $R''N$ であり、フェニルとして定義された A 基上の少なくとも 1 個の R' が $J-CO_2R$ である請求項 2 記載の化合物。

4.

4-[2-[3-[6-アミノ-2-ピリジニル]-1-オキソプロピル-

(メチル) アミノ]-1-オキソエチル] フェノキシ酢酸；

4-[2-[4-[6-アミノ-2-ピリジニル]-1-オキソプロピル-(メチル) アミノ]-1-オキソエチル] フェノキシ酢酸；または

4-[[N-メチル-N-(5-(2-アミノベンズイミダゾリル)] アミノ] アセチル]-2, 2'-[1, 2-フェニレンビス (オキシ)] ビス酢酸；

またはその医薬上許容される塩である請求項 3 記載の化合物。

5.

Zが $(CH_2)_{1-2}$ であり、Wが \textcircled{N} であり、フェニルとして定義された

A 基上の少なくとも 1 個の R' が $J-CO_2R$ である請求項 2 記載の化合物。

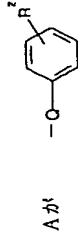
6. 4-[[N-メチル-N-(3-(4-ピリジニル) プロピオニル] アミノ] アセチル]-2, 2'-[1, 2-フェニレンビス (オキシ)] ビス酢酸；またはその医薬上許容される塩である請求項 5 記載の化合物。

7. Zが $(CH_2)_n$ またはフェニルであり、

r および s が、各々、0 であり、

m および n が、各々、1 であり、

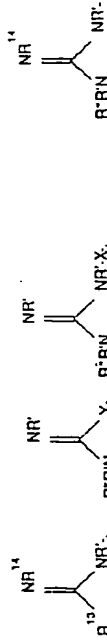
V が存在せず、



A が

である請求項 1 記載の化合物。

8. Wが



または

である請求項 7 記載の化合物。

9.

N'-アセチル-カラバニル-グリシニル-アスパルチル-アニリド；

N'-ベンゾイル-N (クアニジノ) -シアノ-N'-メチル-アラルギニル-グリシニル-アスパルチル-1-アニリド；または

N'-ベンゾイル-NΔ-[(シアノイミノ) (フェノキシ) メチル]-N

-メチル-1-オルニチル-グリシニル-アスパルチル-1-アニリド；

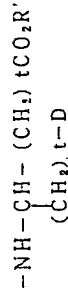
またはその医薬上許容される塩である請求項 8 記載の化合物。

10. ZがHetであり、

m および n が、各々、1 であり、

V が存在せず、

A が



である請求項 1 記載の化合物。

【発明の詳細な説明】

血小板凝集阻害用化合物

発明の分野

本発明は血小板凝集を阻害する新規化合物、該化合物を含む医薬組成物および該化合物の使用法に関する。

発明の背景

血小板の凝集は、主に、インテグリンと称される付着レセプターの一種であるフィブリノゲンレセプター、またはGPIIb-IIIa血小板レセプター複合体により媒介されると考えられている。インテグリンレセプターの天然のリガンドは、Arg-Gly-Asp配列（一文字アミノ酸コードではRGD）を含有する蛋白質であることが多いことが判明している。GPII-IIIaレセプターについての天然のリガンドと考えられる、フォン・ウィルブラント (von Willebrand) 因子およびフィブリノゲンは、その一次構造においてRGD配列を有する。機能的には、これらの蛋白質は隣接する血小板上のGPIIb-IIIaレセプターと結合および交差結合能を有し、それにより、血小板の凝集が生じる。

フィブロネクチン、ピロネクチンおよびトロンボスポンジンは、GPIIb-IIIaと結合することが知られているRGD含有蛋白質である。フィブロネクチンは、血液中に見られ、細胞内マトリックスにおける構造蛋白質として機能する。構造蛋白質およびGPIIb-IIIa間の結合は、血小板を損傷した血管壁に付着させるように機能する。

ピロネクチンに結合し、RGD配列を有する直鎖状および環状ペプチドが、WO89/05150 (PCTUS88/04403) に開示されている。EP0275748は、GPIIb-IIIaレセプターと結合し、血小板凝集を阻害する直鎖状のペプチドでないヘキサペプチドおよび環状ヘキサペプチドを開示している。その開示が展開明示により本明細書の一部とされる、他の直鎖

状および環状ペプチドは、EP-A0341915にて報告されている。しかし、このような阻害剤のペプチド状構造は、薬物デリバリー、代謝安定性および選択性などにおいてしばしば問題を有する。天然のアミノ酸配列で構成されないア

イブリノゲンレセプターの阻害剤がEP-A0372486、EP-A0381033およびEP-A0478363に開示されている。WO92/07568 (PCT/US91/08166) は、環式7員環構造を形成することによりRGD配列におけるγ-ターン構造を模倣したフィブリノゲンレセプター-タンゴニストを開示している。しかし、in vivoおよびin vitroにて有効な効果を有し、アミノ酸配列のペプチド骨格構造を有しない新規フィブリノゲンレセプター-タンゴニスト（例、GPIIb-IIIa蛋白質の阻害物質）について、なお要求がある。

本発明は新規化合物を開示する。これらの化合物はGPIIb-IIIaレセプターへの結合を阻害し、血小板凝集を阻害する。

発明の要約

一態様において、本発明は以下の式(1)に記載するような、新規化合物を提供する。

本発明はまた、式(1)の化合物と、医薬上許容される担体とからなる、血小板凝集または血餅形成を阻害する医薬組成物を提供する。

本発明はさらには、有効量の式(1)の化合物を内部投与することからなる、血小板凝集の阻害を必要とする哺乳動物における血小板凝集阻害法に関する。別の態様において、本発明は、フィブリノゲン溶解治療後の哺乳動物における動脈または静脈の再閉塞の阻害法であって、有効量のフィブリノゲン溶解剤および式(1)の化合物を内部投与することからなる阻害法を提供する。本発明はまた、卒中、一過性虚血性発作、心筋梗塞またはアテローム性動脈硬化症の治療法を提供する。

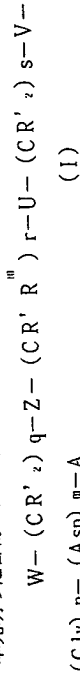
発明の詳細な記述

本発明は、血小板凝集を阻害する新規化合物を開示する。該新規化合物はGPIIb-IIIaレセプターと有利に相互作用し、5および6員環上の側鎖置換基がまたレセプターと有利に相互作用するように配向すると考えられる。

特定の作用機構と結び付けるものではないが、これらの化合物は、フィブリノゲンの血小板結合フィブリノゲンレセプター-GPIIb-IIIaとの結合を阻害し

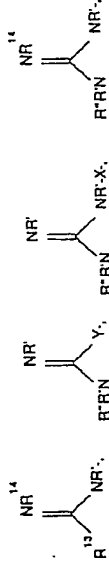
、推定RGD結合部位の拮抗作用を介して他の付着蛋白質と相互作用すると考えられる。

本発明の化合物は、式(1)：



[式中、

WはR'R''N-、R'R''NR'N-、R'R''NR'NCO-、R'zN
R'NC(=NR')-、R'ONR'C(=NR')-、



または

(N) であり、

Zは(CH2)t、Het、Ar、C3-7 シクロアルキルまたはNR'であり、
UおよびVは、独立して、存在しないか、またはCO、CR'z、C(=CR'z)、S(O)r、O、NR'、CR'OR'、CR'(OR'')CR'z、CR'zCR'(OR'')、C(O)CR'z、CR'zC(O)、CONR'、NR'、CO、OC(O)、C(O)O、C(S)O、OC(S)、C(S)NR'、NR'C(S)、S(O)r、R'、NR'S(O)r、N=N、NR'NR'、

NR'CR'z、CR'zO、OCR'z、C≡C、CR'=CR'またはCR'(NR'R'')C(O)として存在し、

XはN=CR'、C(O)またはOであり、

YはSまたはOであり、

mは0または1であり、

nは0または1であり、

qは0ないし3であり、

rは、各々、独立して0ないし3であり、

sは0ないし2であり、

tは、各々、独立して0ないし2であり、

R'は、各々、独立してH、C1-4 アルキル、C3-7 シクロアルキル-C0-4 アルキルまたはAr-C0-4 アルキルであり、

R''は、各々、独立してR'、-C(O)R'または-C(O)OR'であり

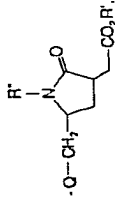
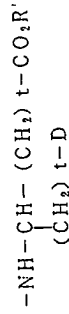
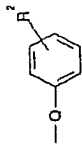
R'''は存在しないか、またはH、C1-4 アルキルまたはNR'R'として存在し、

R'''は、各々、独立してR'、CF3、S'またはOR'であり、

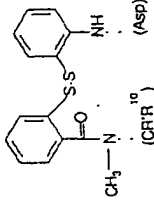
R'''は、各々、独立してC1-4 アルキル、C3-7 シクロアルキル-C0-4 アルキル、Ar-C0-4 アルキル、C(O)R'、CN、NO2、SO2R'またはC(O)OR'であり、

R'''は、各々、独立してC1-4 アルキル、C3-7 シクロアルキル-C0-4 アルキルまたはAr-C0-4 アルキルであり、

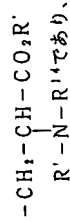
Aは



または



R^2 は存在しないかまたは C_{1-4} アルキル、 $J-CO_2R'$ 、 $CONR'$ 、 SR 、 $NR'R''$ 、 C_{1-4} アルコキシ、ヒドロキシ、 CN 、 CF_3 、ハロ、または



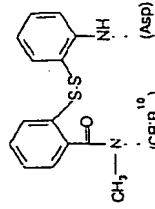
J は単結合、 $-OCR'_{2-}$ 、 $-NR'CR'_{2-}$ 、 $CR'_{2-}CR'_{2-}$ 、 $-CR_{2-}$ 、 $-CR'_{2-}$ 、 $-CR'_{2-}$ または $-C(O)NR'CR'_{2-}$ であり、

Q は単結合、 CR'_{2-} 、 S 、 O または NR' であり、

D は C_{1-4} アルキル、 C_{1-17} シクロアルキル、 Ar または Het を意味する；ただ

し、

(1) A が



である場合、

$W-(CR'_{2-})q-Z-(CR'R''^m)r-$ は、 $H_2N-(CH_2)_{3-5}-CH-$ 以外の基であり、

(2) A が



または

である場合、

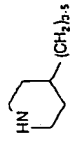
$W-(CR'_{2-})q-Z-(CR'R''^m)r-$ は $NNHR'$ 以外の基であり、および (3) A が



または

である場合、

$W-(CR'_{2-})q-Z-(CR'R''^m)r-$ は、

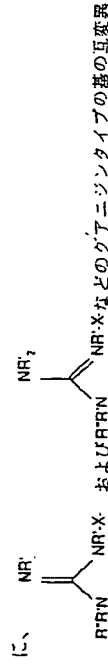
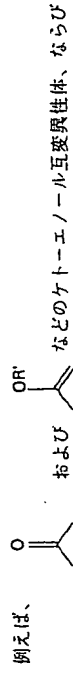


以外の基である]

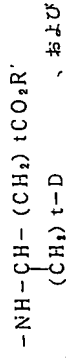
で示される化合物またはその医薬上許容される塩である。

本発明はまた、本発明の化合物の複合体またはプロドラッグを包含する。プロドラッグは、*in vivo* にて式 (1) の活性な親薬剤を放出する共有結合したキャリアーと考えられる。

本発明の化合物が1またはそれ以上のキラル中心を有する場合、特に記載しない限り、本発明は通常の技術により合成され、分割される各独立の非ラセミ化合物を包含する。化合物が不飽和炭素-炭素二重結合を有する場合、シス (Z) およびトランス (E) 異性体は共に本発明の範囲内にある。化合物が互変異性体形



(17)



WはR' R'' N-である。

前記した下位群の式(1)に包含される本発明の個々の化合物は、限定される

ものではないが、以下のもの：

3- [6-アミノ-2-ペリジニル] プロピオニル-グリシル-L-アスパ

ルチル-L-フェニアラニン；および

4- [6-アミノ-2-ペリジニル] ブチル-グリシル-L-アスパルチ

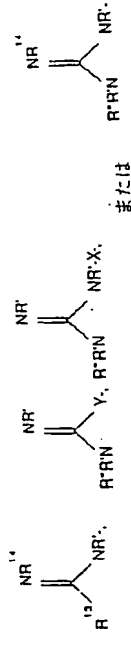
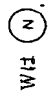
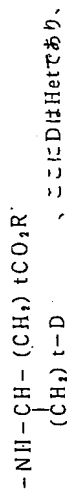
ル-L-フェニアラニン

またはその医薬上許容される塩を包含する。

さらに、式(1)に関して、適当には、

Zは(CH₂)_n、またはNR'であり、

Aは



である。

前記した下位群の式(1)に包含される本発明の個々の化合物は、限定される

ものではないが、以下のもの：

N'-ベンゾイル-NΔ-[1H-イミダゾール-2-イル]-L-オルニ

チルグリシル-β-(2-ベンゾアゾリル)-β-アラニン；および

ε-N-[(4-クアニジニアミノ) ブタノイルサルコニル] -β-(2

-ベンゾアゾリル)-β-アラニン；

またはその医薬上許容される塩を包含する。

(18)

また、式(1)に関して、適当には、

ZはArまたはHetであり、

mおよびnは、各々、1であり、

sは0であり、

Vは存在せず、

WはR' R'' N-である。

前記した下位群の式(1)に包含される本発明の個々の化合物は、限定される

ものではないが、以下のもの：

シクロ- (S, S) - (2-メルカプト) ベンゾイル-N'-メチル-4-

アミノメルフェニアラニル-グリシル-アスパルチル- (2-メルカプト)

フェニルアミドを包含する。

ペプチドおよび化学の分野で通常用いられる略語および記号を本明細書におい

て用い、本発明の化合物を記載する。一般に、アミノ酸略号は、IUPAC-I

UB Joint Commission on Biochemical Nomenclature (ヨーロッパ・ジャ

ナル・オブ・バイオケミストリー (Eru.J.Biochem.) , 158, 9 (1984)

に記載) に従う。

Argはアルギニンを表し、MeArgはN'-メチル-アルギニン、HArgはホ

モアルギニン、NArgはノルアルギニン、(Me) ArgはN' , N''-ジメチル

アルギニン、(Et) ArgはN' , N''-ジエチルアルギニン、Orniはオルニチ

ンを表す。これらの基は、R'置換基の適当な成分である。これらのアミノ酸の

N'-置

換誘導体も本発明において有用である。α-置換誘導体の代表的製法は、米国特

許第4, 687, 758号；チェン (Cheung) ら、カナディアン・ジャーナル・

オブ・ケミストリー (Can.J.Chem.) , 55, 906 (1977) ；フライディ

ンガー (Freidinger) ら、ジャーナル・オブ・オーガニック・ケミストリー (J.

Org.Chem.) , 48, 77, (1982) ；およびシュマン (Shuman) ら、ペプ

タイズ (PEPTIDES) : PROCEEDINGS OF THE 7TH AMERICAN PEPTIDE SYMPOSIUM,

リッチ・ディ (Rich.D.) , グロス・イー (Gross.E.) , ピアース・ケミカル社；

ペンチル、シクロペンチニル、シクロヘキシル、シクロヘキセニルおよびシクロヘプチルである。通常の化学合成により得ることができ、安定な、シクロアルキル環上の R^2 から選択されるような3個までの置換基のいずれの組み合わせも本発明の範囲に含まれる。

本明細書において用いる \textcircled{N} は、3個までの窒素原子または1個の窒素

原子ならびに酸素および硫黄から選択される1個のヘテロ原子を含有し、安定な構造が得られるようにいずれかの元素上で置換されているもよい、飽和または不飽和の、安定な5、6または7員単環式環、または7ないし10員の二環式環である窒素ヘテロ環をいい、その窒素ヘテロ原子は所望により第四級化されているもよい。窒素ヘテロ環は、いずれか安定な位置が C_{1-4} 、アルコキシ、 C_{1-4} アルキルチオ、F、Cl、Br、I、 NO_2 、 NR'^2 、OH、 CO_2R' 、CONHR'または C_{1-4} アルキルで置換されているもよい。

\textcircled{N} の代表例は、ピロリン、

ピロリジン、イミダゾール、イミダゾリン、イミダゾリジン、ピラゾール、ピラゾリン、ピラゾリジン、ピペリジン、ピペラジン、モルホリン、ピリジン、テトラヒドロピリジン、テトラヒドロ-およびヘキサヒドロ-アゼピン、キヌクリジン、キヌクリジニウム、キノリン、イソキノリンおよびテトラ-およびパーヒド

ロ-キノリンおよびイソキノリンである。特に、 \textcircled{N} は、ピロリジニル、

イミダゾリル、ピロリジニル、ピペリジニル、ピペラジニルまたはテトラヒド

ピリジニルである。

t-Buは第3ブチル基をいい、Bocはt-ブチルオキシカルボニル基、Fmocはフルオレニルメトキシカルボニル基、Phはフェニル基、Cbzはベンジルオキシカルボニル基、BrZはオ-ブromoベンジルオキシカルボニル基、ClZはオ-クロベンジルオキシカルボニル基、Bzlはベンジル基、4-MBzlは4-メチルベンジル基、Meはメチル、Etはエチル、Acはアセチル、Alkは C_{1-3} アルキル

(Pierce Chemical Co.) 編、ロックホード (Rockford)、イリノイ州、617 (1981)に記載されており、その内容を出典明示により本明細書の一部とする。

本明細書において用いる C_{1-4} アルキルは分枝または非分枝状の炭素鎖を意味し、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、n-ペンチルおよびt-ブチルを包含する。 C_{1-4} アルキルはさらに、ペンチル、n-ペンチル、イソペンチル、ネオペンチルおよびヘキシルおよびその単純な脂肪族異性体を包含する。 C_{1-4} アルキルおよび C_{1-6} アルキルはさらにアルキルが存在する必要がない(例えば共有結合が存在する)ことも意味する。

本明細書において用いるAr、またはアリールは、フェニルまたはナフチル、または1~3個の R^2 基で置換されたフェニルまたはナフチルを意味する。特に、 R^2 は C_{1-4} アルキル、 C_{1-4} アルコキシ、 C_{1-4} アルキルチオ、トリフルオロアルキル、OH、Cl、Br、I、Fまたは $J-CO_2H$ であり、ここにJは式(1)の記載と同意義である。

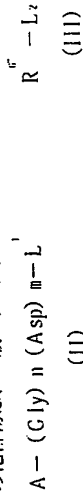
Het、またはヘテロサイクリルは、窒素、酸素および硫黄の群から選択される1~3個のヘテロ原子を含有する、所望により置換されているもよい5または6員の単環式環、または9または10員の二環式環を意味し、それは安定で、通常の化学合成により利用可能である。代表的な複素環は、イミダゾール、ベンズイミダゾール、ピロール、インドール、ピリジン、ピリミジン、ピラジン、キノリン、ベンゾフラン、フラン、ベンゾピラン、ベンゾチオフェン、チオフェン、チアゾール、ベンゾチアゾール、インドリン、モルホリン、ピペリジン、ピペラジン、ピロリジン、イソキノリン、ならびにテトラ-およびパーヒド-キノリンおよびイソキノリンである。Het環上、 R^2 から選択されるような3個までの置換基の可能な組み合わせであり、化学合成により得ることができ、安定な組み合わせは本発明の範囲に含まれる。

C_{3-7} シクロアルキルは3~7個の炭素原子を有する所望により置換されているもよい炭素環系をいい、2個までの不飽和炭素-炭素結合を含有しているもよい。典型的な C_{3-7} シクロアルキルは、シクロプロピル、シクロブチル、シクロ

、Nphは1-または2-ナフチル、およびc Hexはシクロヘキシルをいう。Me AgはN-メチルアルギニンである。

DCCはジシクロヘキシカルボジイミド、DMA Pはジメチルアミノピリジン、DIEAはジイソプロピルエチルアミン、EDCはN-エチル-N' (ジメチルアミノ) プロピル) カルボジイミドをいう。HOBtは1-ヒドロキシベンゾトリアゾール、THFはテトラヒドロフラン、DIEAはジイソプロピルエチルアミン、DMFはジメチルホルムアミド、NBSはN-ブロモスクシンイミド、Pd/Cは炭素上パラジウム触媒、PPAは1-プロパンホスホン酸環状無水物、DPPAはジフェニルホスホルルアジド、BOPはベンゾトリアゾール-1-イルオキシートリス (ジメチルアミノ) ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート、HFはフッ化水素、TEAはトリエチルアミン、TFAはトリフルオロ酢酸、PCCはクロクロム酸ピリジニウムをいう。

式(1)の化合物は、一般に、式(II)および式(III)：



【式中、A、mおよびnは式(1)の記載と同意義であり、いずれの反応性官能基も保護されており、

L¹およびL²は反応して-(CR'¹R'²)r-U-(CH'¹)₂s-V-結合の形

成能を有する官能基であり、

R''はW-(CR'²)q-Z-oおよびL¹に連結している(CR'¹R'²)r-U-(CH'¹)₂s-V-であり、いずれの反応性官能基も保護されている]で示される化合物を反応させることにより製造され、その後、いずれの保護基も除去し、

所望により医薬上許容される塩を形成してもよい。
L¹およびL²の完全な一致は、形成される結合の部位に依存することは明らかであろう。例えば、EP-A-0372486およびEP-A-0381033およびEP-A-0478363において(CR'¹R'²)r-U-(CH'¹)₂s-V-結合の一般的制作方法が記載されており、その内容を出典明示により本明細書

の位置部とする。

例えば、VがCONH₂である場合、L¹は-NH₂であり、L²はOH (例、酸) またはCl (例、酸塩化物) であり、R''はW-(CR'²)q-Z-(CR'¹R'²)r-U-(CH'¹)₂s-C(O) (ここに、いずれの官能基も所望により保護されていてもよい) であってもよい。例えば、R''は (ベンジルオキシカルボニル) ベンゾイル-または (N⁺-Boc, N⁺-Tos) アルギニル-であってもよい。L¹がOHである場合、カップリング剤を用いる。

同様に、VがNHCOである場合、L¹は-CO₂HまたはCOClであり、L²は-NH₂であり、R''はW-(CR'²)q-Z-(CR'¹R'²)r-U-(CH'¹R'²)s-であってもよい。例えば、R''は (ベンジルオキシカルボニル) フェニル、ベンジルオキシカルボニルアミノ) メチルベンジル-または6- (ベンジルオキシカルボニルアミノ) ヘキシル-であってもよい。

VがNH₂SO₂である場合、L¹はSO₂Clであり、L²は-NH₂であり、R''は前記と同じであってもよい。VがSO₂NHである場合、L¹は-NH₂であり、L²はSO₂Clである。このような塩化スルホニルの製法は、例えばジャーナル・オブ・オーガニック・ケミストリー (J. Org. Chem.), 23, 1257 (1958) に開示されている。

VがCH=CHである場合、L¹は-CHOであり、L²はCH=P-P-Ph₃であり、R₄''はW-(CR'²)q-Z-(CR'¹R'²)r-U-(CH'¹)₂s-である。VがC₆H₅CH₂である場合は、VがCH=CHである適宜保護された化合物を還元することにより得ることができる。

もよい。

VがC₆H₅OまたはC₆H₄Nである場合、L¹は、各々、-OHまたは-NH₂であり、L²は-B₂であり、R''はW-(CR'²)q-Z-(CR'¹R'²)r-U-(CH'¹)₂s-であってもよい。例えば、R''は (ベンジルオキシカルボニル) メチルベンジル-または2- (N-ベンジル-4-ペリジニル) エチル-であってもよい。同様に、UまたはVがOCH₃またはNR'¹CH₂である場

合、 L' は $-CH_2Br$ であり、 L'' は、各々、 $-OH$ または $-NH$ であってもよい。

V が $CHOHCH_2$ である化合物は、ジャーナル・オブ・オーガニック・ケミストリー、54, 1354 (1989) に開示されている操作により、 V が $CH=CH$ である適宜保護された化合物より製造してもよい。

V が CH_2CHOH である化合物は、テトラヘドロン・レターズ (Tet. Lett.)、31, 231 (1990) に開示されているホウ水素化および塩基性酸化により、 V が $CH=CH$ である適宜保護された化合物より得ることができる。

本発明において用いるカップリング剤はペプチド結合を形成するのに用いることができる試薬を意味する。典型的なカップリング法は、カルボジイミド、活性無水物およびエステルおよびアシルハライドを用いる。典型的には、EDC、DCC、DPPA、PPA、BOP 試薬、HOBt、N-ヒドロキシスクシンイミドおよび塩化オキサリルなどの試薬である。

ペプチド結合を形成するカップリング法は、一般に、当該分野において周知である。ボダンスキー (Bodansky) ら、ザ・プラクティス・オブ・ペプチド・シンセシス (THE PRACTICE OF PEPTIDE SYNTHESIS), Springer-Verlag, ベルリン、1984、アリ (Ali) ら、ジャーナル・オブ・メディシナル・ケミストリー (J. Med. Chem.), 29, 984 (1986) およびジャーナル・オブ・メディシナル・ケミストリー、30, 2291 (1987) に示されるペプチド合成法が該技術の一般例であり、その開示を典拠としてより本明細書の一部とする。

アミドまたはペプチド結合を形成するための溶液合成は、アミド結合を形成す

るのに用いられる方法を利用して行われる。典型的には、アミンまたはアニリンをその遊離アミノ基を介して適当なカルボン酸基質に、適当なカルボジイミドカップリング剤、例えば N 、 N' -ジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC) を用いて、所望により触媒、例えば 1-ヒドロキシベンゾトリアゾール (HOBt) およびジメチルアミノピリジン (DMA P) の存在下に結合させる。他の方法、例えば適宜保護した酸基質の遊離カルボキシルの活性化エステル、無水物または酸ハロゲン化物を形成させ、その後、適宜保護したアミンの遊離アミンを、

所望により塩基の存在下で反応させる方法もまた適当である。例えば、保護した Boc-アミノ酸または Cbz-アミノ安息香酸を、塩化メチレンまたはテトラヒドロフラン (THF) などの無水溶媒中、 N -メチルモルホリン、DMA P またはトリアルキルアミンなどの塩基の存在下、クロロギ酸イソブチルで処理して「活性化無水物」を形成させ、これを用いて別の保護したアミノ酸またはアニリンの遊離アミンと反応させる。

式 (III) の化合物は、市販の物質から常套手段により調製される。W は、一般に、所望によりアルキル鎖を介して、Z に結合した塩基性官能基であり、合成の間、保護されるか、または $-(CR'R''R''')r-U-(CH'_2)s-V$ 結合が形成された後に分子中に導入される。例えば、式 (III) または式 (I) の化合物 (式中、W は適宜置換された $R'R''N$ 、 R'_2N 、 $R'(R'')C=N$ 、 $R''N=(R''')C-NR'$ 、 $R'_2N(R'_2N)C=N$ または $R''R'N(R'N)C-NR'$ を意味する) は、EP-A 0 478 363 (その開示を典拠としてより本明細書の一部とする) に開示されている方法を含む常套手段により調製される。

式 (III) の化合物 (式中、W は \textcircled{N}) は、とりわけ、EP-A 0 47

8 363 に開示されている方法により調製される。

W が $R'_2N(R'_2N)C=N-X$ または $R''R'N(R'N)C-NR'-X$ であり、X が O である化合物は、とりわけ、ジャーナル・オブ・オーガニック・ケミストリー (J. Org. Chem.), 51, 5047 (1986) に開示されている

方法により調製される。

W が $R'_2N(R'_2N)C=N-X$ または $R''R'N(R'N)C-NR'-X$ であり、X が $N=CR'$ である化合物は、とりわけ、米国特許第 3, 714, 253 号およびヨーロッパ・ジャーナル・オブ・メディカル・ケミストリー・シーミー・セラピューテックス (Eur. J. Med. Chem.-Chim. Ther.), 20,

25 (1985) に開示されている方法により調製される。

WがR'、N(R')₂ C=N-X-またはR'' R' N(R' N)=C-NR'-X-であり、XがC(O)である化合物は、とりわけ、米国特許第3,714,253号およびカナディアン・ジャーナル・オブ・ケミストリー (Can. J. Chem.), 43, 3103 (1965) に開示されている方法により調製される。

WがR' ONR' C(=NR')-である化合物は、とりわけ、ジャーナル・オブ・ヘテロサイクリック・ケミストリー (J. Het. Chem.), 16, 1063 (1979) またはジャーナル・オブ・ヘテロサイクリック・ケミストリー, 26, 125 (1989) に開示されている方法により調製される。

WがR'、NR' NC(=NR')-である化合物は、シンセシス (Syn.), 583 (1974) に開示されているものを含む常套手段により調製される。

WがR' R'' NR' N-である化合物は、とりわけ、ジャーナル・オブ・ブタケティカル・ケミストリー (J. Prakt. Chem.), 36, 29 (1967) に開示されている方法により調製される。

WがR' R'' NR' NCO-である化合物は、とりわけ、デュレイン・オブ・ケミカル・ソサイエティ・ジャパン (Bull. Chem. Soc. Jpn.), 43, 2257 (1970) に開示されている方法により調製される。

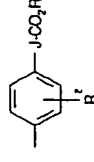
WがR' R' NC(=NR') Yであり、YがSである化合物は、とりわけ、ケミカル・レターズ (Chem. Lett.), 1379 (1986) に開示されている方法により調製される。

式 (III) または式 (I) の化合物 (式中、WはR'' R' NC(=NR') Yであり、YはOを意味する) は日本国特許第2022751号に開示されているものを含む常套手段により調製される。

各合成フラグメントの側鎖の反応性官能基は当該分野において公知のように適宜保護される。適当な保護基は、グリーン (Greene)、「有機化学における保護基」(PROTECTIVE GROUPS IN ORGANIC CHEMISTRY), John Wiley and Sons, ニューヨーク, 1981) に開示されている。例えば、Boc、Cbz、フタロイルまたはFmoc基はアミノまたはアミノ基の保護に用いられる。α-アミノ基を保

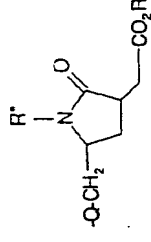
護する場合、一般に、Boc基が好ましい。t-Bu、c-Hexまたはベンジルエステルはカルボキシル側鎖の保護に用いられる。ベンジル基または適宜置換されたベンジル基 (例、4-メトキシベンジルまたは2,4-ジメトキシベンジル) を用い、メルカプト基またはヒドロキシル基を保護する。イミダゾリル基の保護にはトシル基が、グアニジノ基の保護にはトシルまたはニトロ基が用いられる。適宜置換されたカルボベンジルオキシ基またはベンジル基もまた、ヒドロキシル基またはアミノ基について用いられる。カルボベンジルオキシまたはベンジル保護基の適当な置換は、クロロ、プロモ、ニトロまたはメチルでのオルトおよび/またはパラ置換であり、保護基の反応性を修飾するために用いられる。Boc基を除いて、アミノ基についての保護基は、最も好都合には、穏やかな酸処理によって除去されないものである。これらの保護基は、当該分野において知られているように、接触水素添加、ナトリウム/液体アンモニアまたはHF処理などの方法により除去される。

Aが



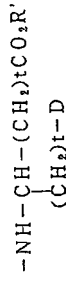
である式 (II) の化合物は、EP-A0381033 (出典明示により本明細書の一部とする) に開示されている方法により調製される。

Aが



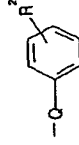
である式 (II) の化合物は、EP-A0483667 (出典明示により本明細書の一部とする) に開示されている方法により調製される。

Aが



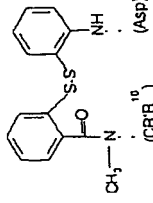
である式 (II) の化合物は、EP-A0319506 (出典明示により本明細書の一部とする) に開示されている方法により調製される。

Aが



である式 (II) の化合物は、WO/08464およびWO92/13552 (出典明示により本明細書の一部とする) に記載されている方法により調製される。

Aが



である式 (II) の化合物は、EP-A0425212 (出典明示により本明細書の一部とする) に開示されている方法により調製される。

式 (I) の化合物の酸付加塩は、親化合物および過剰量の酸、例えば塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン酸、酢酸、マレイン酸、コハク酸またはメタンスルホン酸から適当な溶媒中、標準的方法で調製される。酢酸塩の形態が特に有用である。ある種の化合物は、許容できる内部塩または双性イオンを形成する。カチオン性塩は、親化合物を、適当なカチオンを含有する水酸化物、炭酸塩またはアルコキシドのような過剰のアルカリ試薬；または適当な有機アミンで処理することにより調製される。Li⁺、Na⁺、K⁺、Ca²⁺、Mg²⁺、NH₄⁺のようなカチオンは、医薬上許容される塩において存在するカチオンの例である。

本発明は、式 (I) の化合物および医薬上許容される担体からなる医薬組成物を提供する。したがって、式 (I) の化合物は医薬の製造において用いられる。

前記したように調製した式 (I) の化合物の医薬組成物を経口投与用に溶液または凍結乾燥粉末として処方してもよい。粉末は使用前に適当な希釈剤または他の医薬上許容される担体を添加することにより復元される。液体処方では緩衝等張水溶液であってもよい。適当な希釈剤の例は、通常の等張塩溶液、標準5%水中デキストロースまたは緩衝酢酸ナトリウムまたはアンモニウム溶液である。このような処方は特に経口投与に適しているが、経口投与にも用いられ、また吸入用の用量計吸入器またはネブライザーに入れてもよい。ポリビニルピロリドン、ゼラチン、ヒドロキシセルロース、アカシア、ポリエチレングリコール、マンニトール、塩化ナトリウムまたはクエン酸ナトリウムのような賦形剤を添加することが望ましい。

また、これらの化合物は経口投与用にカプセル化、打錠化またはエマルジョンまたはシロップに調製される。医薬上許容される固体または液体担体を添加して、組成物を強化または安定化させ、または組成物の調製を容易にする。固体担体は、デンプン、ラクトース、硫酸カルシウム二水和物、白上、ステアリン酸マグネシウムまたはステアリン酸、タルク、ペクチン、アカシア、寒天またはゼラチンを包含する。液体担体は、シロップ、ピーナツ油、オリーブ油、食塩水および水を包含する。担体は、また、モノステアリン酸グリセリルまたはジステアリン酸グリセリルのような除油性物質を単独またはワックスと共に含有してもよい。固体担体の量は変化するが、好ましくは、単位投与量当たり約20mg〜約1gの間である。医薬調製物は、錠剤形の場合、粉砕、混合、および必要ならば、圧縮化；またはハードゼラチンカプセル形の場合、粉砕、混合および充填を含む通常の調剤技術に従って調製される。液体担体を用いる場合、調製物はシロップ、エリキシル、エマルジョンまたは水性または非水性懸濁剤の形態である。このような液体処方は、直接的に経口投与、またはソフトゼラチンカプセルに充填して投与される。

経直腸投与の場合、本発明の化合物はまた、カカオ脂、グリセリン、ゼラチンまたはポリエチレングリコールのような賦形剤と組み合わせて、坐剤に成型して

もよい。

本発明は、また、哺乳動物、特にヒトにおいて血小板凝集および血餅形成を阻害する方法であって、式(1)のペプチドおよび医薬上許容される担体を内部投与することからなる阻害方法を提供する。このような薬法についての適応症は、急性心筋梗塞(AMI)、深静脈血栓症、肺塞栓症、解部無尿症、一過性虚血発作(TIA)、卒中および他の梗塞関連障害、および不安定アングナを包含する。分散性血管内凝固(DIC)、敗血症、手術または感染性ショック、手術後および分娩後外傷、心肺バイパス手術、不適合輸血、胎盤早期剥離、血栓症性血小板減少性紫斑症(TTP)、ヘビ毒および免疫病のような慢性または急性の高凝集性症候群はこのような治療に反応しやすい。加えて、本発明の化合物は、転移状態の予防、免疫刺激を誘発する真菌性または細菌性感染症の予防または治療、骨吸収が要因である病気の予防または治療において有用である。

本発明の化合物を患者に、血液中の薬剤濃度が血小板凝集またはこのような他の適応症を阻害するのに十分な濃度になるように経口または非経口投与する。本発明の化合物を含有する医薬組成物を、約0.2〜約50mg/kgの用量で、患者の症状に合うように投与する。急性療法の場合、非経口投与が好ましい。高凝集の持久性症状の場合、化合物の5%水中デキストロスまたは生理食塩水中静脈内注入液が最も有効であるが、筋肉内ボラス注射でも十分である。

慢性であるが、重篤でない血小板凝集の症状の場合、カプセルまたは錠剤の経口投与またはボラス筋肉内注射が適当である。本発明の化合物を一日につき1〜4回、約0.4〜約50mg/kgのレベルで投与して、一日用量が合計約0.4〜約200mg/kg/日とする。

本発明はさらにフィブリン溶解療法後の動脈または静脈の再閉塞の阻害法であって、式(1)の化合物およびフィブリン溶解剤を内部投与することからなる阻害法を提供する。フィブリン溶解療法におけるある種の化合物の投与は、再閉塞を完全に防止するかまたは再閉塞までの時間を延長することが判明している。

本発明の内容において用いている場合、フィブリン溶解剤なる語は、天然または合成製品のいずれであっても、フィブリン血餅の溶解を直接または間接的に生じさせる化合物を意味する。プラスミノゲン活性化剤は周知の一群のフィブリン溶

解剤である。有用なプラスミノゲン活性化剤は、例えば、アニストレプラーゼ、ウロキナーゼ(UK)、プロウロキナーゼ(pUK)、ストレプトキナーゼ(SK)、組織プラスミノゲン活性化剤(tPA)、および化学的に修飾されているか、または1個またはそれ以上のアミノ酸が付加、欠失または置換されているか、または1個またはそれ以上の機能領域が付加、欠失もしくは1個のプラスミノゲン活性化剤の活性部位を別のプラスミノゲン活性化剤またはフィブリン結合分子のフィブリン結合領域と合するように変更されている変異体のような、プラスミノゲン活性化剤活性を保持する、その突然変異体または変異株を包含する。他の例示的変異株は、1個またはそれ以上のグリコシル化部位が変更されているtPA分子を包含する。プラスミノゲン活性化剤のうち好ましいのは、第一アミノ酸配列が成長因子領域でプラスミノゲン活性化剤の血清半減期が増加するように変更されているtPA変異株である。tPA成長因子変異株は、例えば、ロビンソン(Robinson)ら、EP-A 0 297 589およびブラウン(Browne)ら、EP-A 0 240 334に開示されている。他の変異株は、ハイブリッドタンパク質、例えば、EP 0 028 489、EP 0 155 387およびEP 0 297 882(そのすべてを引用開示により本明細書の一部とする)に開示されているものを包含する。アニストレプラーゼが本発明における使用に好ましいハイブリッドタンパク質である。フィブリン溶解剤は、天然源から単離されるが、通常は遺伝子工学の伝統的方法により産生される。

tPA、SK、UKおよびpUKの有用な処方は、例えばEP-A 0 211 592、EP-A 0 092 182および米国特許第4,568,543号(そのすべてを引用開示により本明細書の一部とする)に開示されている。典型的には、フィブリン溶解剤は、緩衝等張水溶液、例えば、酢酸またはアジピン酸ナトリウムまたはアンモニウム緩衝液(pH3.3〜5.5)に処方される。ポリビニルピロリドン、ゼラチン、ヒドロキシセルロース、アカシア、ポリエーレン、グリコール、マンニトールおよび塩化ナトリウムのような別の賦形剤を添加してもよい。このような組成物は凍結乾燥できる。

医薬組成物は、式(1)の化合物およびフィブリン溶解剤の両方を同一容器中に処方してもよいが、別の容器内に処方するのが好ましい。両方の薬剤を溶液形態にて提供する場合、同時投与用の注入/注射系に、またはタンデム装置中に含めることができる。

このような療法の適応症は、心筋梗塞、深静脈血栓症、肺塞栓症、卒中および他の梗塞関連障害を包含する。本発明の化合物をtPAまたは他のフィブリン溶解剤の非経口投与の直前、同時、または直後に投与する。再灌流が、最大限、療法後の再閉塞を阻害するように確立された後も、本発明に係る化合物での治療を十分な期間続けるのが望ましいことが判明している。tPA、SK、UKまたはpUKの有効用量は0.5~5mg/kgであり、ペプチドの有効用量は約0.1~25mg/kgである。

阻害剤およびフィブリン溶解剤を同時または別々に都合よく投与する場合、1個の容器、例えば、箱、カートンまたは他の容器、個別のビン、袋、バイアルまたは他の容器であって、各々、前記の有効量の非経口投与用阻害剤および前記の有効量の非経口投与用tPAまたは他のフィブリン溶解剤を入れたものからなるキットが調製される。このようなキットは、例えば、別々の容器または同一の容器に入れられた両薬剤と、所望の凍結乾燥プラグと、復元用溶液の容器とからなるいてもよい。この変形は、復元用溶液および凍結乾燥プラグを1個の容器の2つのチャンバーに含めるものであり、これを使用前に混合できる。このような装置では、フィブリン溶解剤および本発明の化合物を別々に、2個の容器にパッケージしたり、または粉末として一緒に凍結乾燥して1個の容器にて提供できる。

両薬剤を溶液形態にて提供する場合、これら薬剤は同時投与用の注入/注射系またはタンデム装置に配合できる。例えば、血小板凝集阻害剤は、静脈内注射可能な形態、またはチューブを介して一列に別の注入バッグ内のフィブリン溶解剤に通結した注入バッグに入れてもよい。このような系を用いた場合、患者は、最初、ボラス型の阻害剤の注射または注入を受け、続いてフィブリン溶解剤の注入を受けることができる。

本発明の化合物の薬理活性を、H-SK&F107260(公知のRGD-

フィブリノゲン拮抗剤)のGP1IbIIIaレセプターとの結合を阻害する能力:in vitroで血小板凝集を阻害する能力およびin vivoで血栓形成を阻害する能力により評価する。

RGD-媒介GP1Ib-IIIa結合の阻害

GP1Ib-IIIaの精製

10ユニットの古い、洗浄したヒト血小板(赤十字より入手)を、3%オクタグルコシド、20mMトリス-HCl(pH7.4)、140mM NaCl、2mM CaCl₂中、4℃で2時間、穏やかに攪拌するで溶解させた。その溶解物を100,000gで1時間遠心分離に付した。得られた上清液を、20mM トリス-HCl(pH7.4)、100mM NaCl、2mM CaCl₂、1%オクタグルコシド(緩衝液A)で予備平衡した、5mlのレンチル・レクチン・セファロース4Bカラム(E.Y.Labs)に加えた。2時間インキュベーションした後、該カラムを緩衝液A(50ml)で洗浄した。レクチン保持GP1Ib-IIIaを10%デキストロース含有の緩衝液Aで溶出した。すべての操作は4℃で行った。得られたGP1Ib-IIIaは、SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動操作によれば、純度が>95%であった。

GP1Ib-IIIaのリボソームへの組み込み

ホスファチジルセリン(70%)およびホスファチジルコリン(30%)の混合物(Avanti Polar Lipids)を、窒素流下、ガラス管壁に乾燥させた。精製したGP1Ib-IIIaを最終濃度0.5mg/mLに希釈し、1:3(w:w)のタンパク質:リン脂質の比にてリン脂質と混合した。該混合物を再び懸濁させ、バスソニケーターにて5分間超音波処理に付した。ついで、該混合物を、100倍過剰の50mMトリス-HCl(pH7.4)、100mM NaCl、2mM CaCl₂(2回交換)に対する12,000-14,000分子量カットオフ透析を用いて一夜透析した。GP1Ib-IIIa含有リボソームを少し、12,000gで1

5分間遠心分離に付し、約1mg/mLの最終タンパク質濃度で再び透析緩衝液に懸濁させた。該リボソームを必要になるまで-70℃で貯蔵した。

GPIIb-IIIaへの競合結合

フィブリノゲンレセプター (GPIIb-IIIa) に対する結合を、RGD-型リガンドとして $[H] - SK \& F - 107260$ を用いる間接的競合結合法により検定した。該結合検定は、 $22 \mu m$ の親水性デュラポーア (durapore) 膜を用い、 96 -ウェルの透過プレート装置 (ミリポール・コーポレーション (Millipore Corporation), Bedford, MA) にて行った。該ウェルを $10 \mu g/mL$ のポリリシン (シグマ・ケミカル社 (Sigma Chemical Co.), St. Louis, MO.) $0.2 mL$ で、室温で1時間、プレコートし、非特異的結合を遮断した。種々の濃度の非標識ベンザジザピンを、四重試験にて該ウェルに加えた。 $[H] - SK \& F - 107260$ を $4.5 nM$ の最終濃度にて各ウェルに加え、つづいて精製した血小板 GPIIb-IIIa 含有リボソーム $1 \mu g$ を加えた。混合物を室温で1時間インキュベートした。GPIIb-IIIa 結合 $[H] - SK \& F - 107260$ を、ミルポール透過マニホールドを用いる透過により非結合体より分離し、つづいて氷冷緩衝液 (2回、各 $0.2 mL$) で洗浄した。濾紙に残っている結合放射能性を、ベックマン・リキッド・シンチレーション・カウンタ (Beckman Liquid Scintillation Counter) (Model LS6800) におけるレディー・ソルブ (Ready Solve) (Beckman Instruction, Fullerton, CA) $1.5 mL$ にて計数した (40% 効率)。非特異的結合を $2 \mu M$ の非標識 $SK \& F - 107260$ の存在下で測定し、それはサンプルに加えた全放射活性の 0.14% 未満であった。すべてのデータは4重試験の平均である。本発明の化合物は $[H] - SK \& F - 107260$ 結合を約 $10 \mu M$ ないし約 $200 \mu M$ の範囲の K_i で阻害する。

血小板凝集の阻害

血液を特定の実験を受けたことがない雑種成犬より収集した (シトレート処理に付し、凝固作用を抑制した)。血小板に富む血漿 (PRP) を、 $150 \times g$ で10分間、室温で遠心分離に付すことにより調製した。洗浄した血小板を PRP を $800 \times g$ で10分間遠心分離に付すことで調製した。こうして得られた細胞ペレットを、 Ca^{++} 不含 Tyrode 緩衝液 (pH 6.5) にて2回洗浄し、 3×10

細胞 $/mL$ の濃度で、 $1.8 mM Ca^{++}$ 含有の Tyrode 緩衝液 (pH 7.4) に再び懸濁させた。すべての血小板凝集の検定において、化合物をアゴニスト添加の3分前に加えた。最終アゴニスト濃度は、トロンビン (0.1 単位 $/mL$) および ADP ($2 mM$) (シグマ社) であった。凝集を Chrono-Log Lumi-Aggr egometer にてモニター観察した。アゴニスト添加の5分後の光透過率を用い、式

$$\% \text{凝集} = [(90 - CR) / (90 - 10)] \times 100$$

〔式中、CRはチャート読み、90はベースライン、10はPRPブランク読みを意味する〕

に従って凝集%を算定した。 IC_{50} を、〔凝集の阻害%〕対〔化合物濃度〕をプロットすることにより測定した。化合物を $200 mM$ で検定し、逐次、2つのフアクターで希釈し、適当な用量応答曲線確立した。

本発明の化合物は、ADPで刺激されたヒト血小板の凝集を約 $70 \sim 200 \mu M$ の IC_{50} で阻害する。

化合物の血漿中プロテアーゼに対する安定性を評価するために、化合物をアゴニストの添加前に PRP 中で3時間 (3分ではなく) 培養した。

血小板凝集の in vivo 阻害

血栓形成の in vivo 阻害を、エイケン (Aiken) 5、プロスタグランジンズ (Prostaglandins), 19,629 (1980) に記載されている方法にしたがって、麻酔したイヌにペプチドを注入し、全身性および血液学的効果を記録することにより測定する。

以下の実施例は、本発明の範囲を何ら制限するものではなく、本発明の化合物の調製法および使用を説明するものである。多くの他の具体例は、当業者には自明であり容易に利用可能であろう。

実施例

実施例1

4-[2-[3-[6-アミノ-2-ピリジニル]-1-オキソプロピル-(メチル)-アミノ]-1-オキソエチル]フェノキシ酢酸

(i) 3-(2-[6-プロモピリジル]) - プロパルギルアルコール
 2, 6-ジプロモピリジン (15 g, 63ミリモル) をフラスコに入れ、該フラスコをアルゴンでフラッシュした。トリエチルアミン (200 ml) を加え、該フラスコを0℃に冷却した。このフラスコに、プロパルギルアルコール (5 ml, 85ミリモル)、ピス (トリフェニルホスフィン) パラジウム (II) クロリド (1.5 g, 1.4ミリモル) およびヨウ化第一銅 (0.50 g, 2.6ミリモル) を加えた。反応混合物を0℃でまたは20分間攪拌し、ついで室温に加熱し、攪拌をアルゴン下で18時間続けた。この期間の経過後、反応混合物を酢酸エチルで希釈し、酢酸エチルリンス液と一緒に濾過した。溶媒を蒸発させ、得られた淡褐色固体をクロマトグラフィー (シリカゲル、70%酢酸エチル/ヘキサン) に付し、淡褐色固体として粗生成物 (8 g, 59%) を得た。これをヘキサンでトリチュレートし、淡黄色固体として生成物 (6.5 g, 48%) を得た。
 $\text{NMR (CDCl}_3\text{)} : 7.52 \text{ (}^{\text{t}}\text{, 1H, J=7.8)} ; 7.45 \text{ (d, 1H, J=7.8)} ; 7.39 \text{ (d, 1H, J=7.4)} ; 4.52 \text{ (s, 2H)} . \text{マッススペクトル} : 194 \text{ (M+H}^+\text{-H}_2\text{O)} ; 212 \text{ (M+H}^+\text{)} ; 234 \text{ (M+Na}^+\text{)} .$ また、検知可能な量のピス付加物 (2, 6-ジ (3-ヒドロキシ-1-プロピニル) ピリジン) が観察された。

(ii) 3-(2-[6-プロモピリジル]) - プロパベン-1-オール

3-(2-[6-プロモピリジル]) - プロパルギルアルコールをチレイ (Tilley) らの方法 (JOC, 1988, 386頁) を用いて還元した。(1) (420 mg, 2.0ミリモル) をエタノール (10 ml) に溶かし、酸化白金 (IV) 水和物 (20 mg, 0.08ミリモル) およびトリエチルアミン (0.20 ml, 1.5ミリモル) で処理した。該フラスコを H_2 でフラッシュし、大気圧の H_2 の下、室温で1時間攪拌した。ついで反応混合物を酢酸エチルを用いるショートシリカゲルプラグを介して濾過し、触媒のほとんどを除去した。得られた灰色油をクロマトグラフィー (シリカゲル、50%酢酸エチル/ヘキサン) に付し、無色油として生成物 (310 mg, 72%) を得た。 $\text{NMR (CDCl}_3\text{)} : 7.48 \text{ (}^{\text{t}}\text{, 1H, J=7.8)} ; 7.16 \text{ (d, 1H, J=7.5)} ; 4.12$

$(b, r, 1H) ; 3.69 \text{ (t, 2H, J=6.2)} ; 2.88 \text{ (t, 2H, J=7.5)} ; 1.97 \text{ (}^{\text{q}}\text{, 2H, J=6.6)} . \text{マッススペクトル} : 198 \text{ (M+H}^+\text{-H}_2\text{O)} ; 216 \text{ (M+H}^+\text{)} ; 238 \text{ (M+Na}^+\text{)} .$
 (iii) 3-(2-[6-プロモピリジル]) - プロピオン酸
 3-(2-[6-プロモピリジル]) - プロパベン-1-オール (1.3 g, 6.0ミリモル) をアセトン (100 ml) に溶かし、0℃に冷却した。ジエーゾ試薬 (4.5 ml) を3回で20分間隔にて添加した。最後の添加から20分経過した後、反応物を過剰のイソプロパノールでクエンチし、10分間攪拌した。ついで、該反応混合物を水で希釈し、ロータリーエバポレーターに付して、有機溶媒を除去した。残りの水溶液をさらに水で希釈し、酢酸エチルで4回抽出した。有機層をブラインで1回リンスし、硫酸ナトリウムで乾燥し、蒸発させて白色固体として生成物 (1.1 g, 80%) を得た。 $\text{NMR (CDCl}_3\text{)} : 7.48 \text{ (}^{\text{t}}\text{, 1H, J=7.8)} ; 7.34 \text{ (d, 1H, J=7.9)} ; 7.17 \text{ (d, 1H, J=7.5)} ; 3.09 \text{ (t, 2H, J=7.2)} ; 2.85 \text{ (t, 1H, J=7.2)} . \text{マッススペクトル} : 212 \text{ (M+H}^+\text{-H}_2\text{O)} ; 230 \text{ (M+H}^+\text{)} ; 254 \text{ (M+Na}^+\text{)} .$

(iv) 3-(2-[6-アミノピリジル]) - プロピオン酸

ドライアイス/アセトン冷却器を備えた三ツロフラスコおよびガラス攪拌板を備えた機械攪拌機にて、アンモニア (250 ml) を冷却した。このフラスコに $\text{Fe (NO}_3\text{)}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (約100 mg) およびカリウム元素 (7.5 g, 190ミリモル) を加えた。得られた暗青色溶液を還流温度で75分間攪拌し、その期間経過後、乾燥THF (10 ml) 中の3-(2-[6-プロモピリジル]) - プロピオン酸 (1.2 g, 5.2ミリモル) を加えた。約10分後、さらに10 mlのTHFを加えた。反応混合物を6.5時間加熱還流し、ついで塩化アンモニウム (60 g) でクエンチした。アンモニアを一夜蒸発させた。得られた黄色固体を酢酸エチルで徹底的に抽出し、こうして得られた粗生成物をクロマトグラフィー (シリカゲル、15%メタノール/1%酢酸/塩化メチレン) に付した。酢酸塩として所望の生成物 (0.47 g, 40%) を得た。

NMR (CD₃OD) : 7.62 (t, 1H, J=8.0) ; 6.64 (d, 1H, J=8.7) ; 6.60 (d, 1H, J=7.3) ; 2.92 (t, 2H, J=6.8) ; 2.60 (t, 2H, J=6.9) ; 1.94 (br). マススペクトル : 149 (M+H-H₂O) ; 167 (M+H)。さらに、13%収率のプロモアミドが得られた。

(v) 4-[2-[3-[6-アミノ-2-ピリジニル]-1-オキソプロピル-(メチル)-アミノ]-1-オキソエチル]フェノキシ酢酸

3-(2-[6-アミノピリジニル]-プロピオン酸(95mg, 0.42ミリモル)、4-[2-(メチルアミノ)-1-オキソエチル]フェノキシ酢酸ベンジルエステル塩酸塩(149mg, 0.43ミリモル)および1-ヒドロキシベンゾトリアゾール水和物(HOBT)(76mg, 0.56ミリモル)をジメチルホルムアミド(8ml)中に含し、フラスコをアルゴンでフラッシュした。ついで、ジソプロピルエチルアミン(335μl, 1.9ミリモル)を加え、該フラスコを0℃に冷却した。該混合物を5分間攪拌した後、1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩(EDC)(103mg,

0.54ミリモル)を一度に加え、該混合物を室温に加熱した。該混合物をアルゴン下で3日間攪拌した。ついで、高真空を用いて数時間、ジメチルホルムアミドを除去した。得られた残渣をクロマトグラフィー(シリカゲル、10%メタノール/塩化メチレン)に付した。こうして得られた生成物(45mg, 0.097ミリモル)をメタノールに溶かし、ブタノール(16mg)中に攪拌したパラジウム(炭素上10%)で処理した。該フラスコをH₂でフラッシュし、ついでH₂雰囲気下、室温で数時間攪拌した。溶液をイソプロパノールで希釈し、濾過し、ロータリーエバポレーターを用いて溶媒を除去した。逆相HPLCにより所望の生成物をトリフルオロ酢酸塩(2工程について17%収率)として得た。

NMR (CD₃OD) : 7.96 (d, 2H, J=8.8) ; 7.76 (t, 1H, J=8.1) ; 7.03 (d, 2H, J=8.8) ; 6.81 (d, 1H, J=9.0) ; 6.73 (d, 1H, J=7.3) ; 4.87 (s, 2H) ; 4.72 (s, 2H) ; 3.14 (s, 3H) ; 3.05 (t, 2H, J=6

1) ; 2.99 (t, 2H, J=6.5)。このピークはアミド結合配座異性体に対応する対となるセット(比率が約3:1)を有した。マススペクトル : 370 (M-H) ; 484 (M+CF₃COO) ; 741 (2M-H)。元素分析 : C₂₀H₂₄N₄O₅ · 1.0F₃C₂O₂H · 0.5H₂Oとして、計算値(%) : C, 51.02 ; H, 4.69 ; N, 8.50 ; 測定値(%) : C, 51.19 ; H, 4.38 ; N, 8.14。

実施例2

4-[2-[4-[6-アミノ-2-ピリジニル]-1-オキソプロピル-

(メチル)アミノ]-1-オキソエチル]フェノキシ酢酸

(i) 4-(2-[6-プロモピリジニル]-3-ブチン-1-オール)プロパルギルアルコールの代わりに3-ブチン-1-オールを用い、実施例1(1)と同様の反応を行った。収率 : 49%。NMR (CDCl₃) : 7.49 (t, 1H, J=7.7) ; 7.41 (d, 1H, J=7.8) ; 7.34 (d, 1H, J=7.3) ; 3.85 (t, 2H, J=6.1) ; 2.72 (t, 2H, J=6.2)。マススペクトル : 226 (M+H) ; 250 (M+Na)。

。ビス-アダクツを

16%収率にて得た。

(ii) 4-(2-[6-プロモピリジニル]-ブタン-1-オール)4-(2-[6-プロモピリジニル]-3-ブチン-1-オールを用い、実施例1(ii)と同様の反応を行った。収率 : 82%。NMR (CDCl₃) : 7.46 (t, 1H, J=7.6) ; 7.30 (d, 1H, J=7.6) ; 7.12 (d, 1H, J=7.3) ; 3.68 (t, 2H, J=6.3) ; 3.0 (br, 1H) ; 2.79 (t, 2H, J=7.7) ; 1.79 (m, 2H) ; 1.63 (m, 2H)。マススペクトル : 212 (M+H-H₂O) ; 230 (M+H) ; 252 (M+Na)。元素分析 : C₁₉H₂₄NOBrとして、計算値(%) : C, 46.98 ; H, 5.26 ; N, 6.09 ; 測定値(%) : C, 46.96 ; H, 5.16 ; N, 5.89。また、オレフィンを8%収率にて得た。

(iii) 4-(2-[6-プロモピリジニル]-ブタン酸

4- (2- [6-プロモピリジル]) -ブタン-1-オールを用い、実施例 1 (iii) と同様の反応を行った。収率：95%。NMR (CDCl₃) : 9.9 (b r, 1H) ; 7.48 (" t", 1H, J = 7.6) ; 7.32 (d, 1H, J = 7.8) ; 7.14 (d, 1H, J = 7.3) ; 2.84 (t, 2H, J = 7.5) ; 2.42 (t, 2H, J = 7.1) ; 2.06 (" q", 2H, J = 7.3)。

(iv) 4- (2- [6-アミノピリジル]) -ブタン酸

4- (2- [6-プロモピリジル]) -ブタン酸を用い、酢酸エチルからの再結晶で最終精製を行う以外、実施例 1 (iv) と同様の反応を実施した。収率：71%。NMR (CD₃OD) : 7.58 (" t", 1H, J = 8.0) ; 6.59 (m, 2H) ; 2.71 (t, 2H, J = 7.6) ; 2.30 (t, 2H, J = 7.1) ; 1.95 (" q", 2H, J = 7.3)。マッススペクトル：163 (M+H-H₂O) ; 181 (M+H)。

(v) 4- [2- [4- [6-アミノ-2-ピリジニル] -1-オキソブチル(メチル) アミノ] -1-オキソエチル] フェノキシ酢酸

4- (2- [6-アミノピリジル]) -ブタン酸を用い、水素添加後、触媒を除去するための濾過をイソプロパノールの代わりに1%酢酸/水で実施する以外、実施例 1 (v) と同様の反応を実施した。全収率：26%。NMR (DMSO-d₆) : 7.93 (d, 2H, J = 8.7) ; 7.75 (" t", 1H, J = 8.0) ; 7.62 (b r, 1H) ; 7.4 (d, 2H, J = 8.8) ; 6.73 (d, 1H, J = 8.8) ; 6.66 (d, 1H, J = 7.2) ; 4.83 (s, 2H) ; 4.81 (s, 2H) ; 3.36 (b r) ; 3.00 (s, 3H) ; 2.70 (t, 2H, J = 7.6) ; 2.45 (t, 2H, J = 7.3) ; 1.86 (m, 2H)。このピークもまた、アミド結合配坐異性体に対応する対となるセット (比率が約2:1) を有した。マッススペクトル：384 (M-H) ; 498 (M+CF₃COO) ; 769 (2M-H)。元素分析：C₂₀H₂₂N₄O₅ · 1.5 F₃C₂O₂H · 2.0 H₂Oとして、計算値 (%) : C, 46.63 ; H, 4.85 ; N, 7.09 ; 測定値 (%) : C, 46.25 ; H, 5.02

; N, 6.88。

実施例 3

3- [6-アミノ-2-ピリジニル] -プロピオニル-グリシリン

(L) -アスパルチル- (L) -フェニルアラニン

3- (2- [6-アミノピリジル]) -プロピオン酸 (63mg, 0.28ミリモル)、HOBT (50mg, 0.37ミリモル)、HCl · H₂N-Gly-A sp (OBn) -Phe-OBn (155mg, 0.28ミリモル) およびジイソプロピルエチルアミンを乾燥ジメチルホルムアミド (7ml) 中に合した。反応混合物を0℃に冷却した。EDC (68mg, 0.35ミリモル) を一度に加え、反応混合物を室温に加熱し、アルゴン下に置いた。18時間経過後、ジメチルホルムアミドをロータリーエバポレーター上40℃で除去した。残渣を酢酸エチルと水の間に分配し、有機層を水で1回、5%クエン酸で2回、再度水で1回、5%炭酸水素ナトリウム溶液で2回、再び水で、最後にブラインでリンスした。有

機溶液を硫酸ナトリウム上で乾燥させ、酢酸エチルを除去した。この溶液から、出発ペプチド85mg (55%) を回収した。合した水性リンス液を希NaOHでpH9に調整し、ジクロロメタンで抽出した。こうして得られた油をクロマトグラフィー (シリカゲル、5%メタノール/塩化メチレン) に付した。こうして得られた生成物 (30mg, 0.5ミリモル) をエタノール (5ml) に溶かし、10%Pd/C (ブタノールで湿らせた) (10mg) で処理した。フラスコをH₂でフラッシュし、H₂雰囲気下で18時間攪拌した。この時間経過後、TLCはいくらかの量の出発物質を示し、そこでさらに10%Pd/C (7mg) を加え、該反応混合物をH₂下に置いた。さらに24時間後、ロータリーエバポレーターを用いて溶媒を除去し、残渣を1%酢酸/水で処理した。溶液を濾過し、HPLCを用いて精製した。これにより白色粉末として所望の生成物 (19mg) を得た。全収率：10%。NMR (CD₃OD) : 7.79 (" t", 1H, J = 8.1) ; 7.22 (m, 5H) ; 6.81 (d, 1H, J = 9.0) ; 6.73 (d, 1H, J = 7.2) ; 4.74 (" t", 1H, J = 5.1) ; 4.61 (m, 1H) ; 3.85 (s, 2H) ; 3.18 (" a-b", 1H, J =

4. 5) : 3. 02 (m, 3H) ; 2. 79 (" a-b", 1H, J=5. 0) ; 2. 66 (m, 3H)。マススペクトル : 484 (M-H) ; 598 (M+C₂F₃COO)。元素分析 : C₂₁H₂₀N₂O₇ · 2 · 5 F₃C₂O₂H · 2 · 5 H₂O として、計算値 (%) : C, 41. 24 ; H, 4. 22 ; N, 8. 59 ; 測定値 (%) : C, 41. 30 ; H, 4. 26 ; N, 8. 81。

実施例 4

4- [6-アミノ-2-ピリジニル]-γ-ブチル-グリシル-

(L)-α-スバルチル-(L)-α-フェニルアラニン

4- (2- [6-アミノピリジル]) -γ-ブタン酸を実施例 3 と同様の方法にて処理した。全収率 : 11 %。NMR (DMSO-d₆) : 8. 21 (d, 1H, J=8. 1) ; 8. 16 (br, 1H) ; 8. 01 (d, 1H, J=7. 7) ; 7. 80 (" t", 2H, J=7. 9) ; 7. 20 (m, 5H) ; 6. 79 (d, 1H, J=8. 8) ; 6. 70 (d, 1H, J=7. 3) ; 4. 59 (" q", 1H, J=5. 1) ; 4. 36

(" q", 1H, J=5. 2) ; 3. 69 (s, 2H) ; 3. 41 (br) ; 2. 97 (" a-b" d, 2H, J=5. 2, J=8. 5) ; 2. 67 (m, 3H) ; 2. 42 (" a-b", 1H, J=8. 3) ; 2. 19 (t, 2H, J=7. 1) ; 1. 85 (m, 2H)。マススペクトル : 498 (M-H) ; 612 (M+C₂F₃COO)。元素分析 : C₂₁H₂₀N₂O₇ · 2 · 0 F₃C₂O₂H · 1. 5 H₂O とし、計算値 (%) : C, 44. 57 ; H, 4. 54 ; N, 9. 28 ; 測定値 (%) : C, 44. 84 ; H, 4. 80 ; N, 8. 68。

実施例 5

N'-α-セチル-カナバニル-グリシニル-α-スバルチル-アニリド

(1) N'-γ-ブチルオキシカルボニル-N'-γ-ブチルオキシカルボニル-カナバニン

カナバニン硫酸塩 (5. 0 g, 18. 2 ミリモル、シグマ (Sigma)) を 10 % NaOH (水溶液、50 ml) および γ-ブチルアルコール (50 ml) の混合物に溶かし、室温で 13 日間、ジ炭酸ジ-γ-ブチル (12. 0 g) 55 ミリモ

ル) で処理した (反応は 2 日で完了)。反応混合物を真空中で蒸発させ、ついで減圧でメタノールより蒸発させた。粗生成物を真空中でそのナトリウム塩として貯蔵し、さらに精製することなく用いた : MS (FAB) ナトリウム塩 : m/e 398 [(M-H) + Na] 。

(ii) メチル N'-γ-ブチルオキシカルボニル-N'-γ-ブチルオキシカルボニル-カナバニル-グリシナート

DMF (250 ml) 中の前記の保護カナバニン塩を、ジイソプロピルエチルアミン (19 ml, 109. 3 ミリモル)、メチルグリシナート硫酸塩 (4. 5 g, 36. 5 ミリモル、シュバイツァーホール (Schweizerhall))、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール (4. 93 g, 36. 5 ミリモル) およびベンゾトリアゾール-1-イルオキシートリス (ジメチルアミノ) ホスホニウムヘキサフルオロホスファート (16. 1 g, 36. 5 ミリモル) と反応させ、室温で 24 時間攪拌し

た。真空中での蒸発後、残渣をフラッシュクロマトグラフィー (シリカゲル、8 × 20 cm, 2 % メタノール/クロロホルム ; シリカゲル、8 × 20 cm, 60 % 酢酸エチル/ヘキサゴン) を繰り返すことにより精製し、生成物 (3. 86 g) (カナバニン硫酸塩より 47 %) を得た。H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 1. 44 (s, 9H) , 1. 49 (s, 9H) , 1. 98-2. 13 (m, 2H) , 3. 77 (s, 3H) , 3. 93-4. 24 (m, 6H) , 4. 37-4. 53 (m, 1H) , 5. 55-5. 68 (m, 1H) , 6. 31-6. 48 (m, 1H) , 7. 74-7. 84 (m, 1H) 。

(iii) N'-γ-ブチルオキシカルボニル-γ-ベンジル-α-スバルチル-アニリド

N'-γ-ブチルオキシカルボニル-γ-ベンジル-α-スバルチン酸 (5. 0 g, 15. 5 ミリモル, PRF) を DMF (100 ml) に溶かし、アニリン (2. 1 ml, 23. 3 ミリモル)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール (2. 3 g, 17. 1 ミリモル) および N, N-ジシクロヘキシルカルボジイミド (3. 2 g) 15. 5 ミリモル) と室温で 24 時間反応させた。反応物を濾過し、濾液

(44)

ミノ) ホスホニウムヘキサフルオロボスファート (3.05 g、6.9ミリモル) で処理し、室温で5日間攪拌した。反応混合物を真空中で蒸発させ、残渣をフラッシュクロマトグラフィー (シリカゲル、6×21 cm、3~10%メタノール/クロロホルム; シリカゲル、6×21 cm、60~100%酢酸エチル/ヘキサン) を繰り返すことにより精製し、少量のHMPA (BOP試薬由来) の混ざった生成物 (2.20 g、89%) を得た。¹H NMR (CDCl₃, 90 MHz) δ 1.43 (s, 9H)、1.47 (s, 9H)、1.97-2.27 (m, 2H)、3.03 (d, 2H, J+7.5 Hz)、3.77-4.10 (m, 4H)、4.20-4.55 (m, 1H)、4.90-5.23 (m, 1H)、5.17 (s, 2H)、5.93 (d, 1H, J=7.5 Hz)、6.17 (br s, 2H)、6.83-8.1

7 (m, 13H)、8.87 (br s, 1H); MS (ES) m/e 714 (M + H)。

(vi) カナバニニル-グリシニル-γ-ベンジル-アスパルチル-アニリド塩
酸塩

保護ペプチド生成物 (486 mg、0.677ミリモル) をTFAと室温で2時間反応させた。反応混合物を減圧下で蒸発させた。残渣をトルエンより、4N HCl/ジオキサンより2回、ついでトルエンより蒸発させ、塩酸塩として粗生成物を得、それをさらに精製することなく用いた。

(viii) N⁺-アセチル-カナバニニル-グリシニル-γ-ベンジル-アスパルチル-アニリド

前記の粗塩をDMFに溶かし、ジイソプロピルエチルアミンで中和した。無水酢酸 (64 μl、0.677ミリモル) を加え、得られた溶液を室温で24時間攪拌した。反応混合物を真空中で蒸発させ、残渣をフラッシュクロマトグラフィー (シリカゲル、4×20 cm、20%メタノール/クロロホルム) に付して精製し、生成物を得た。¹H NMR (CD₃OD, 90 MHz) δ 2.02 (s, 3H)、2.15 (t, 2H, J=6.0 Hz)、2.93-3.17 (m, 2H)、3.83-4.10 (m, 4H)、4.27-5.13 (m, 2H+H₂O)

(43)

を真空中で蒸発させた。残渣をフラッシュクロマトグラフィー (シリカゲル、6×20 cm、15%酢酸エチル/ヘキサン) に付して精製し、生成物 (5.70 g、92%) を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.45 (s, 9H)、2.60-3.23 (m, 2H)、4.53-4.87 (m, 1H)、5.20 (s, 2H)、5.90 (d, 1H, J=9 Hz)、7.00-7.67 (m, 5H)、7.40 (s, 5H)、8.63 (br s, 1H)。

(iv) γ-ベンジル-アスパルチル-アニリド塩酸塩
N⁺- γ -ベンチルオキシカルボニル-γ-ベンジル-アスパルチル-アニリド (2.75 g、6.9ミリモル) を4N HCl/ジオキサンと室温で4時間反応させた。反応混合物を減圧下で蒸発させた。次に、まず残渣をトルエンより蒸発させ、ついでトルエン/メタノールから蒸発させ、真空中で乾燥させて粗生成物を得、それをさらに精製することなく用いた。

(v) N⁺- γ -ベンチルオキシカルボニル-N⁺- γ -ベンチルオキシカルボニル-カナバニニル-グリシン

ジオキサン (10 ml) 中のメチルN⁺- γ -ベンチルオキシカルボニル-N⁺- γ -ベンチルオキシカルボニル-カナバニニル-グリシナート (1.54 g、3.45ミリモル) を1N NaOH (水性) と室温で4.5時間反応させた。反応混合物のpHを5.5-6.0に調整し (1N水性HCl)、ついで真空中で蒸発させた。残渣をトルエンより蒸発させ、減圧下で乾燥させて生成物を得、それをさらに精製することなく用いた。

(vi) N⁺- γ -ベンチルオキシカルボニル-N⁺- γ -ベンチルオキシカルボニル-カナバニニル-グリシニル-γ-ベンジル-アスパルチル-アニリド化合物 γ-ベンチル-アスパルチル-アニリド塩酸塩およびN⁺- γ -ベンチルオキシカルボニル-N⁺- γ -ベンチルオキシカルボニル-カナバニニル-グリシニル-アニリド (200 ml) に溶かし、ジイソプロピルエチルアミン (3.61 ml、20.7ミリモル)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール (932 mg、6.9ミリモル) およびベンゾトリアゾール-1-イルオキシートリス (ジメチルア

D)、5.20 (s, 2H)、6.83-7.93 (m, 10H); MS (ES) m/e 466 (M+H)。

(ix) N'-アセチル-カナバニル-グリシニル-アスパルチル-アニリド前記の保護ペプチドを5% Pd/Cを含むメタノール中に溶かし、水素 (1-バル反応器、50 psi、室温) と4時間反応させた。反応混合物をセライトパッドを介して濾過し、減圧で蒸発させた。ついで、残渣をトルエンおよびメタノールの混合物より蒸発させ、粗生成物 (190 mg) を得た。この物質の一部 (96 mg) をn-ブタノール：酢酸：水 (4:1:5) の上相で溶出す。

る分配クロマトグラフィー (C-25、2.5 cm × 1 cm) に付して精製し、純粋な生成物 (47.6 mg) を得た。ES (FAB) m/e 466 [M+H]⁺、m/e 464 [M-H]⁻; HPLC k' 2.29 [5 μ PRP-1:ハミルトン (Hamilton)、4.6 × 250 mm、流速=1.5 ml/分、UV検出 (220 nm)、88:12 (0.1%トリフルオロ酢酸 (水性): 0.1%トリフルオロ酢酸/アセトニトリル)]; HPLC k' 2.79 [5 μ PRP-1:ハミルトン、4.6 × 250 mm、流速=1.5 ml/分、UV検出 (220 nm)、40:60 (0.1%トリフルオロ酢酸 (水性): 0.1%トリフルオロ酢酸/アセトニトリル)] を95:5 (20分間) で開始し、50:50 (5分間) に保持し、95:5 (5分) に戻す; TLC Rf 0.23 (シリカゲル、4:1:1ブタノール：酢酸：水); TLC Rf 0.42 (シリカゲル、1:1:1ブタノール：酢酸：水)。

実施例6

4-[N-メチル-N-[3-(4-ピリジニル)プロパノイル]アミノ]アセチル]-2,2'-[1,2-フェニレンビス(オキシ)]ビス酢酸

(i) N-(カルボベンジルオキシ)アデレノロン
アドルノロン塩酸塩 (28.6 g、0.121 mol) の5°Cで攪拌した2 N水酸化ナトリウム (200 ml) 中溶液に、クロギ酸ベンジル (20.6 g、0.121 mol) のトルエン (18 ml) 中溶液および2 N水酸化ナトリウム溶液 (60 ml) を同時に滴下した。得られた溶液を5°Cで75分間攪拌し、水 (2

30 ml) で希釈し、1 N塩酸 (536 ml) で酸性化した。得られた懸濁液を30分間攪拌した後、形成した淡緑色固体を濾過し、水 (180 ml) 中に攪拌し、再び濾過した。濾過ケーキをエタノール (135 ml) 中に手短に攪拌し、濾過し、風乾した。固体をエタノール (135 ml) でトリチュレートし、濾過し、真空乾燥して標記化合物 (28.6 g、75%) を得た。融点183-6°C。

¹H NMR (250 MHz, MeOD, δ) 7.35 (m, 7H)、6.83 (d, 1H)、5.1 (s, 2H)、4.55 (s, 2H)。

(ii) 4-[N-(カルボベンジルオキシ)-N-メチルアミノ]アセチル-2,2'-[1,2-フェニレンビス(オキシ)]ビス酢酸ジメチルエステル
実施例6 (i) の化合物 (23.6 g、0.0748 mol)、アセトン (340 ml) および無水炭酸カリウム (21.0 g) の混合物を、アルゴン下、70分間加熱還流した。得られた懸濁液を室温まで冷却し、プロモ酢酸メチル (29.0 g、0.189 mol) で滴下処理した。該懸濁液を、室温で16時間、50°Cで6時間攪拌し、冷却し、濾過した。濾液を濃縮し、残渣をジクロロメタン (800 ml) に溶かし、溶液を水 (160 ml)、5%水性炭酸カリウム (2 × 100 ml) で洗浄し、乾燥 (硫酸ナトリウム) した。濃縮して標記化合物 (26.35 g、82.3%) を得た：融点56-9°C。MS (DCI, NH₃) m/e 446 [M+H]⁺; ¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 7.55 (d, J=8.5, 1H)、7.5 (s, 1H)、7.4 (m, 5H)、6.85 (d, J=8.5, 1H)、5.15 (s, 2H)、4.80 (s, 2H)、4.77 (s, 2H)、4.7 (d, 2H)、3.80 (s, 6H)。元素分析：C₂₂H₂₄NO₈ · 3/8 H₂Oとして、計算値 (%) : C, 58.44; H, 5.29; N, 3.10; 測定値 (%) : C, 58.44; H, 5.13; N, 2.94。

(iii) 4-[N-メチルアミノ]アセチル]-2,2'-[1,2-フェニレンビス(オキシ)]ビス酢酸ジメチルエステル塩酸塩

実施例6 (ii) の化合物 (5.0 g、11.7 ミリモル) の無水メタノール (

150ml) 中溶液を1M塩化水素/ジエチルエーテル(12ml)で処理し、10%パラジウム/炭素を加え、膨張溶液を室温で水素添加(10psi)した。5分後、混合物を濾過し、濾液を濃縮して標記化合物(3.6g, 94%)を得た：融点 $>197^{\circ}\text{C}$ (分解)； $^1\text{H NMR}$ (250MHz, MeOD_d) δ 7.6 (d, $J=8.5, 1\text{H}$)、7.56 (s, 1H)、7.05 (d, $J=8.5, 1\text{H}$)、4.88 (s, 2H)、4.85 (s, 2H)、4.5 (s, 2H)、3.75 (s, 6H)。

(iv) 4-[N-メチル-N-[3-(4-ピリジニル)プロパノイル]アミノ]アセチル]-2,2'-[1,2-フェニレンビス(オキシ)]ビス酢酸ジメチルエステル

3-(4-ピリジニル)プロパン酸(0.75g, 5ミリモル)を塩化チオニル(6ml)中で12分間還流した。混合物を濃縮し、トルエンより2回濃縮した。得られた黄色固体をジクロロメタン(10ml)に懸濁させ、アルゴン下、実施例6(ii)の化合物(1.6g, 5ミリモル)のジイソプロピルエチルアミン(1.9g, 15ミリモル)含有のジクロロメタン(50ml)中冷却溶液に滴下した。明アンバー色溶液を、アルゴン下、室温で20時間攪拌した。混合物を水およびブラインで洗浄し、有機相を乾燥(硫酸マグネシウム)し、濃縮した。残りの油をクロマトグラフィー(シリカゲル、2%メタノール/ジクロロメタン)に付して精製した。生成物含有のフラクシオンを含し、濃縮し、白色固体として標記化合物(0.66g, 30%)を得た：MS (ES) m/e 459 (M^+ + H)； $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 2.75 (t, $J=6.7\text{ Hz}$, 2H)、3.0 (t, $J=6.7\text{ Hz}$, 2H)、3.05 (s, 3H)、3.75 (s, 6H)、4.7 (m, 2H)、4.75 (s, 2H)、6.85 (d, $J=8.5\text{ Hz}$, 1H)、7.15 (d, $J=6.5\text{ Hz}$, 2H)、7.5 (s, 1H)、7.6 (d, $J=8.5\text{ Hz}$, 1H)、8.45 (d, $J=6.5\text{ Hz}$, 2H)。

(v) 4-[N-メチル-N-[3-(4-ピリジニル)プロパノイル]アミノ]アセチル]-2,2'-[1,2-フェニレンビス(オキシ)]ビス酢酸

実施例6(iv)の化合物(0.2g, 0.43ミリモル)の10%水性酢酸中溶液を35時間還流した。混合物を濃縮し、残渣をHPLC(YMC ODS AQ, $50 \times 250\text{ mm}$; 90ml/分, 15% $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ /0.1% TFA, UV検出(220nm))に付して精製した。生成物のフラクシオンを合し、少量にまで濃縮し、凍結乾燥し、綿毛状白色吸湿性固体として標記化合物(92mg, 50%)を得た：MS (ES) m/e 431 (M^+ + H)； $^1\text{H NMR}$ (4

00MHz, MeOD_d) δ 3.05 (t, $J=6.7\text{ Hz}$, 2H)、3.15 (s, 3H)、3.25 (t, $J=6.7\text{ Hz}$, 2H)、4.75 (s, 2H)、4.85 (s, 2H)、4.8 (s, 2H)、7.0 (d, $J=8.5\text{ Hz}$, 1H)、7.55 (s, 1H)、7.65 (d, $J=8.5\text{ Hz}$, 1H)、7.95 (d, $J=6.5\text{ Hz}$, 2H)、8.65 (d, $J=6.5\text{ Hz}$, 2H)。元素分析： $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5 \cdot 1.5\text{ TFA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ として、計算値(%)：C, 46.53；H, 4.15；N, 4.52；測定値(%)：C, 46.33；H, 4.27；N, 4.66。

実施例7

$\text{N}^{\text{a}}\text{-ベンゾイル-N}\Delta\text{-[シアノイミド] (フェノキシ)メチル}-\text{N}^{\text{a}}\text{-MeO}^{\text{a}}\text{-Gly-Asp-フェニルアミド}$

(i) $\text{N}^{\text{a}}\text{-カルボベンジルオキシ-N}^{\text{a}}\text{-メチル-Orn (Phth) ジャーナル・オブ・オーガニック・ケミストリー (J. Org. Chem.) 1983, 48, 77}$ に記載の方法に類似する方法に従って、 $\text{N}^{\text{a}}\text{-Cbz-Orn (Phth)}$ を変換し、標記化合物を得た。

(ii) $\text{N}^{\text{a}}\text{-カルボベンジルオキシ-N}^{\text{a}}\text{-MeO}^{\text{a}}\text{ (Phth) -Glyメチルエステル}$ 実施例7(i)の化合物(9g, 22ミリモル)、グリシンメチルエステル塩(3.5g, 27.8ミリモル)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(3.66g, 27ミリモル)、ジイソプロピルエチルアルミン(8ml, 18ミリモル)および1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩(5.13g, 26.8ミリモル)のジメチルホルムアミド(50ml)中

溶液を一夜攪拌した。混合物を水で希釈し、酢酸エチルで抽出し、有機相を希塩酸および希炭酸ナトリウムで洗浄し、乾燥（硫酸マグネシウム）し、濃縮して標記化合物（8.3g）を得た。

(iii) N⁺ MeOrn (Phth) -Glyメチルエステル

実施例7 (ii) の化合物（25.0g、51ミリモル）のメタノール（150

ml）中溶液を濃塩酸（15滴）および10%パラジウム/炭素（5.0g）で処理した。混合物を水素雰囲気下で5時間振盪した。混合物を濾過し、濾液を濃縮し、標記化合物（21.0g）定量）を得た。

(iv) N⁺ ベンゾイル-N⁺ MeOrn (Phth) -Glyメチルエステル

実施例7 (iii) の化合物（20.0g、58ミリモル）のジクロロメタン（150ml）中溶液をジソプロピルエチルアミン（22.3g、0.17モル）で処理し、氷浴中で攪拌した。混合物を塩化ベンゾイル（8.46g、60ミリモル）のジクロロメタン（20ml）中溶液で処理し、1時間攪拌し、3N塩酸で洗浄した。有機相を乾燥（硫酸マグネシウム）し、濃縮して標記化合物（23.6g、83%）を得た。

(v) N⁺ ベンゾイル-N⁺ MeOrn (Phth) -Gly

実施例7 (iv) の化合物（23g、47ミリモル）のアセトン（250ml）、水（200ml）および濃塩酸（40ml）中溶液を24時間加熱還流し、冷却し、水で希釈し、酢酸エチルで抽出した。有機相を乾燥（硫酸マグネシウム）し、濃縮し、標記化合物（20g、90%）を得た。

(vi) N⁺ ベンゾイル-N⁺ MeOrn (Phth) -Gly-Asp (O-Bzl) -フェニルアミド

実施例7 (v) の化合物（15.0g、32ミリモル）、Asp (O-Bzl) -フェニルアミド（12.7g、32ミリモル）、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール（6.07g、45ミリモル）、ジソプロピルエチルアミン（8.32g、64ミリモル）および1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド・塩酸塩（6.68g、35ミリモル）のジメチルホルムアミド（70ml）中混合物を一夜攪拌した。混合物を水で希釈し、酢酸エチルで抽出し、

有機相を冷3N塩酸で洗浄し、乾燥（硫酸マグネシウム）し、濃縮した。残渣をクロマトグラフィー（シリカゲル、3%メタノール/ジクロロメタン）に付し、標

記化合物（12g、44%）を得た：MS m/e 718.2 [M+H]⁺。

(vii) N⁺ ベンゾイル-N⁺ MeOrn (Phth) -Gly-Asp-フェニルアミド
実施例7 (vi) の化合物（5.0g、5.8ミリモル）を攪拌しながらエタノール（100ml）に溶かし、水性酢酸で洗浄し、濾過した10%パラジウム/炭素（2.0g）で処理した。混合物を水素雰囲気下で15時間振盪し、濾過し、濾液を濃縮して標記化合物（4.4g、88%）を得た。

(viii) N⁺ ベンゾイル-N⁺ MeOrn-Gly-Asp-フェニルアミド

実施例7 (vii) の化合物（4.4g、6.7ミリモル）のエタノール（60ml）中溶液をヒドラジン（1.0g、20ミリモル）と反応させ、1時間加熱還流し、冷却し、濃縮して粗標記化合物を得た。MS (FAB) m/e 498 [M+H]⁺

(ix) N⁺ ベンゾイル-NΔ [(シアノイミノ) (フェノキシ) メチル] -N⁺ MeOrn-Gly-Asp-フェニルアミド

実施例7 (viii) の化合物（2.0g、4.5ミリモル）およびフェニルシアンカーボンイミダート（1.25g、5.3ミリモル）のイソプロパノール（40ml）中混合物を一夜攪拌し、濾過し、濾液を濃縮した。残渣をクロマトグラフィー（シリカゲル、4%-8%-15%メタノール/ジクロロメタン+0.2%酢酸）に付し、標記化合物（0.7g、25%）を得た：MS (ESI) m/e 642.2 [M+H]⁺。

実施例8

N⁺ -ベンゾイル-N⁺ -シアノ-N⁺ -MeArg-Gly-Asp-フェニルアミド
実施例7 (ix) の化合物（0.3g、0.46ミリモル）の溶液をメタノール（20ml）に溶かし、冷却し、アンモニア流で5分間処理した。該混合物を室温で一夜攪拌し、濃縮し、残渣をメタノール（2ml）に溶かし、pHが約5になるまで酢酸で処理した。溶液を水で希釈し、白色固体として標記化合物（0.

g、92%)を得た：MSm/e 565.2 [M+H]。

実施例9

$N-[N^{\circ}-\text{ベンゾイル}-N\Delta-(1H-イミダゾール-2-イル)-N^{\circ}-\text{メチル}-O\text{m}-Gly]-3-(2-\text{ベンゾチアゾリル})-\beta\text{-アラニン}$

(i) 3-(2-ベンゾチアゾリル)- β -アラニンシクロヘキシルエステル

a) 2-[3-(シクロヘキシルオキシカルボニル)-2-[[(1,1-ジメチルエトキシ)カルボニル]アミノ]プロパノイル]アミノ]フェニルジスルフィド

N-Boc-Asp β -ジクロヘキシルエステル (3.2g) 10ミリモル)、2-アミノフェニルジスルフィド (3.0g、12ミリモル)、クロロギ酸イソブチル (1.44g、14.2ミリモル) および4-メチルモルホリン (1.32g、10ミリモル) のテトラヒドロフラン中混合物を一夜撹拌した。残渣をジクロロメタンに溶かし、水で洗浄し、乾燥し、減圧下で濃縮した。残渣をクロマトグラフィー (シリカゲル、30%エーテル/石油エーテル) に付した。標記化合物含有のアラクションを含し、1N塩酸で洗浄し、水で洗浄し、乾燥し、濃縮して標記化合物 (3.8g、90%)を得た：TLC Rf 0.26 (シリカ、石油エーテル：エーテル (7:3))。

b) 3-(2-ベンゾチアゾリル)-3-(1,1-ジメチルエトキシカルボニル)アミノプロパン酸シクロヘキシルエステル

実施例9 (i) (a) の化合物 (3.1g、3.7ミリモル) および酢酸を50℃に加熱し、亜鉛粉 (5.6g) を15分間隔にて加えた。熱混合物を濾過し、濾液を濃縮し、残渣をクロマトグラフィー (シリカゲル、30%エーテル/石油) に付し、標記化合物 (2.2g、74%)を得た：TLC Rf 0.42 (シリカ、石油エーテル：エーテル (7:3))。

c) 3-アミノ-3-(2-ベンゾチアゾリル)プロパン酸シクロヘキシル

エステル

シオキサン (110ml) 中の実施例9 (i) (b) の化合物 (6.9g、17ミリモル) および塩化水素を一夜撹拌し、濃縮し、残渣をトルエンで処理し、濃縮し、標記化合物 (5.7g、98%)を得た：TLC Rf 0.4 (シリカ、ジクロロメタン：メタノール (97:3))；MS (DCI/NH₃) 305 [M+H]。

(ii) N-[N[°]-ベンゾイル-N[°]-メチル-Om (Phth)-Gly]-3-(2-ベンゾチアゾリル)- β -アラニンシクロヘキシルエステル
実施例7 (v) の化合物 (5.0g、11ミリモル)、実施例9 (i) (c) の化合物 (3.0g) 11ミリモル)、1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩 (2.95g、15.4ミリモル)、ジイソプロピルエチルアミン (3.9ml、22ミリモル) および1-ヒドロキシベンゾトリアゾール (2.1g、15.5ミリモル) のジメチルホルムアミド中混合物を一夜撹拌した。該混合物を濃縮し、水で希釈し、ジクロロメタンで抽出した。有機相を水で洗浄し、乾燥し、濃縮した。残渣をクロマトグラフィー (シリカゲル、5%メタノール/ジクロロメタン) に付し、標記化合物 (3.2g、40%)を得た。

(iii) N-[N[°]-ベンゾイル-N[°]-メチル-Om-Gly]-3-(2-ベンゾチアゾリル)- β -アラニンシクロヘキシルエステル

実施例9 (ii) の化合物 (3.2g、4.4ミリモル) およびヒドラジン水和物 (0.33g) をメタノール (27ml) 中72時間撹拌した。混合物を濃縮し、残渣をHPLC (Ultrasphere ODS, 41mm×250mm、60ml/分、35%アセトニトリル/水/0.1%トリフルオロ酢酸、254nmでnoUV検出) によるクロマトグラフィーに付し、標記化合物 (1.7g、65%)を得た。

(iv) N-(2,2-ジメトキシエチル)-2-メチル-2-シュードチオウレ

ア

a) N-(2,2-ジメトキシエチル)チオウレア

メタノール (200ml) をアンモニアで飽和し、イソチオシアナトアセトア

ルデヒドジメチルアセタール (5.0 g) と一緒に2時間攪拌した。該混合物を濃縮し、残渣をクロマトグラフィー (シリカゲル、5%メタノール/ジクロロメタン) に付し、標記化合物を得た。

b) N-(2,2-ジメトキシエチル)-2-メチル-2-チオシュエドゥレア

アセトニトリル中、実施例9 (iv) (a) の化合物 (5.9 g) およびヨードメタンを一夜攪拌し、濃縮し、ジクロロメタンに溶かし、乾燥し、濃縮して標記化合物を得た。

(v) N-[N'-ベンゾイル-N'-メチル-NΔ-[[(2,2-ジメトキシエチル) アミノ] チオカルボニル]-Omm-Gly]-3-(2-ベンゾチアゾリル)-β-アラニンジクロロヘキシルエステル

実施例9 (iii) の化合物 (1.6 g、2.7ミリモル) および実施例9 (iv) の化合物 (1.1 g、3.9ミリモル) を、ジメチルホルムアミド中、ジイソプロピルエチルアミン (1.3 ml、7.3ミリモル) と一緒に攪拌した。該混合物を濃縮し、残渣を水に溶かした。沈殿固体をジクロロメタンで抽出し、有機相を水で洗浄し、乾燥して濃縮した。残渣をクロマトグラフィー (シリカゲル、5%メタノール/ジクロロメタン) に付し、標記化合物 (1.2 g、63%) を得た。

(vi) N-[N'-ベンゾイル-NΔ-(1H-イミダゾール-2-イル)-N'-メチル-Omm-Gly]-3-(2-ベンゾチアゾリル)-β-アラニンジクロヘキシルエステル

実施例8 (v) の化合物 (1.2 g) を50%トリフルオロ酢酸水溶液 (50 ml) 中に28時間攪拌し、濃縮した。残渣をHPLC (Ultrasphere ODS,

4.1 mm×250 mm、60 ml/分、勾配、A:アセトニトリル B:水/0.1%トリフルオロ酢酸、10%~80%アセトニトリル、UV検出 (254 nm) に付し、標記化合物 (0.2 g) を得た。

(vii) N-[N'-ベンゾイル-NΔ-(1H-イミダゾール-2-イル)-N'-メチル-Omm-Gly]-3-(2-ベンゾチアゾリル)-β-アラニン

実施例9 (vi) の化合物をフッ化水素およびアニソールと反応させ標記化合物を得た。

実施例10

4-[N-メチル-N-[5-(2-アミノベンズイミダゾリル)]-アミノ]アセチル]-2,2'-[1,2-フェニレンビス(オキシ)]ビス酢酸

(i) 4-[N-メチル-N-(3,4-ジニトロベンゾイル)アミノ]アセチル]-2,2'-[1,2-フェニレンビス(オキシ)]ビス酢酸ジメチルエステル

3,4-ジニトロ安息香酸 (1.1 g、4.5ミリモル) の塩化チオニル (10 ml) 中溶液を3時間還流した。反応物を冷却し、濃縮し、ジクロロメタンより2ないし3回濃縮し、減圧下で0.5時間乾燥させた。残渣をジクロロメタン (5 ml) に溶かし、実施例6 (iii) の化合物 (1.45 g、4.0ミリモル) のジイソプロピルエチルアミン (4.0 ml、13.5ミリモル) 含行のジクロロメタン (25 ml) 中溶液に滴下した。混合物を室温で1.5時間攪拌した。

混合物を希塩酸、5%炭酸水素ナトリウム、ブラインで洗浄し、乾燥 (硫酸マグネシウム) し、濃縮した。残渣をフラッシュクロマトグラフィー (シリカゲル、ジクロロメタン:メタノール、99:1) により精製し、標記化合物 (650 mg、33%) を得た: MS (FAB) m/e 520 [M+H]⁺。1H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 8.08 (s, 1H), 8.0 (d, 1H), 7.9 (s, 1H), 7.60 (d, J=8.5, 1H), 7.54 (s, 1H), 6.9 (d, J=8.5, 1H), 4.9 (s, 2H), 4.82 (s, 2H), 4.79 (s, 2H), 3.8 (s, 6H),

3.0 (s, 3H)。

(ii) 4-[N-メチル-N-(3,4-ジアミノベンゾイル)アミノ]アセチル]-2,2'-[1,2-フェニレンビス(オキシ)]ビス酢酸ジメチルエステル・二塩酸塩

実施例10 (i) の化合物 (440 mg、0.8ミリモル) の1Mエーテル性塩化水素 (1.0 ml) 含有のメタノール (20 ml) およびジクロロメタン (5

ml) 中溶液を10%パラジウム/炭素(100mg)で処理し、7時間水素添加した。混合物を濾過し、濾液を濃縮して標記化合物(0.4g、94%)を得た: MS (ES) m/e 460 [M+H]⁺。

(iii) 4-[N-メチル-N-(5-(2-アミノペンズイミダゾリル)]アミノ]アセチル]-2, 2'-[1, 2-フェニレンビス(オキシ)]ビス酢酸ジメチルエステル

実施例10 (ii) の化合物(400mg、0.7ミリモル)の水(10ml)およびメタノール(5ml)中溶液を5%水性炭酸ナトリウムでpH7.0に中和し、つづいて臭化シアン(75mg、0.7ミリモル)を添加した。混合物を室温で一晩攪拌した。メタノールを蒸発させ、水相を10%水酸化ナトリウム水溶液でpH10に塩基性化し、生成物を酢酸エチルで抽出した。有機相を乾燥(硫酸マグネシウム)し、濃縮し、残渣をクロマトグラフィー(シリカゲル、ジクロロメタン:メタノール 93:7)に付し、標記化合物(100mg、31%)を得た: MS (ES) m/e 485 [M+H]⁺、483 [M-H]⁻。

(iv) 4-[N-メチル-N-(5-(2-アミノペンズイミダゾリル)]アミノ]アセチル]-2, 2'-[1, 2-フェニレンビス(オキシ)]ビス酢酸ジトリフルオロ酢酸

実施例10 (iii) の化合物を10%水性酢酸(10ml)中にて24時間加熱還流した。混合物を濃縮し、残渣をトリフルオロ酢酸で処理し、分取用MPLC

(ODSカラム、30%メタノール/水)により精製し、標記化合物(39mg、28%)を得た: MS (ES) m/e 457 [M+H]⁺、455 [M-H]⁻; ¹H NMR (250MHz, MeOD, δ) 7.75 (d, J=8.5, 1H)、7.6 (s, 1H)、7.48 (s, 1H)、7.4 (m, 2H)、7.28 (s, 1H)、7.05 (d, J=8.5, 1H)、5.0 (s, 2H)、4.8 (s, 2H)、4.76 (s, 2H)、3.05 (s, 3H)。

元素分析: C₂₄H₂₆N₄O₈・2TFA・2/3H₂Oとして、計算値(%): C, 43.11; H, 3.88; N, 8.04; 測定値(%): C, 43.11; H, 3.66; N, 8.09。

実施例11

N-[N-(4-[アミノミノメチル]ヒドラゾノ]ブタノイル]-N-メチル-グリニル]-3-(2-ベンゾチアゾリル)-β-アラニン

(i) N-(3-カルボキシプロパノイル)-N-メチル-グリニン ペンジルエステル

サルコシンペンジルエステル(3.0g、30.7ミリモル)および無水コハク酸(5.5g、30.7ミリモル)のトルエン(75ml)中混合物を3時間加熱還流し、冷却し、濾過し、濾液を濃縮した。残渣を5%水性炭酸ナトリウムに溶かし、酢酸エチルで抽出した。水相をコンゴ・レッド紙(Congo Red paper)を用いて濃塩酸でpH3に調整し、酢酸エチルで抽出した。有機相を水で洗浄し、乾燥(硫酸マグネシウム)し、濃縮して標記化合物(7.4g、67.5%)を得た: TLC Rf 0.48 (シリカ、ジクロロメタン:メタノール:ギ酸 9:1:1)。

(ii) N-(3-エチルチオカルボニル)プロパノイル]-N-メチル-グリニンペンジルエステル

実施例11 (i) の化合物(7.4g、28ミリモル)、エタンチオール(1.76g、28.3ミリモル)、1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチ

ルカルボジイミド塩酸塩(5.4g、28ミリモル)、ジイソプロピルエチルアミン(6ml、34ミリモル)、4-ジメチルアミノピリジン(3.42g、27ミリモル)および1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(3.42g、28ミリモル)のジメチルホルムアミド中混合物を一晩攪拌した。混合物を濃縮し、ジクロロメタンに溶かし、水洗した。有機相を乾燥(硫酸マグネシウム)し、濃縮し、残渣をクロマトグラフィー(シリカゲル、ジクロロメタン)に付し、標記化合物(4.8g、55%)を得た: TLC Rf 0.13 (シリカ、ジクロロメタン:メタノール 95:5)。

(iii) N-(3-ホルミル)プロパノイル]-N-メチル-グリニンペンジルエステル

実施例11(ii)の化合物(1.2g)およびトリエチルシラン(1.37g、11.8ミリモル)のアセトン(30ml)中溶液に、10%Pd/Cを少しずつ加えた。混合物を濾過し、濾液をクロマトグラフィー(シリカゲル、5%メタノール/ジクロロメタン)に付し、標記化合物(0.72g)75%)を得た：TLC Rf 0.24(シリカ、ジクロロメタン)：MS(DCl/NH₃) 264 [M+H]。

(iv) N-[4-(アミノイミノメチル)ヒドラゾノ]ブタノイル]-N-メチル-γ-グルタミンベンジルエステル

実施例11(iii)の化合物(0.6g、2.4ミリモル)のエタノール中溶液をアミノグアニジン硝酸塩(0.5g、3.7ミリモル)と反応させ、該混合物を蒸気浴上で加温した。混合物を冷却し、沈殿した固体を濾過し、アセトン、エーテルおよび水で洗浄した。固体をジクロロメタンで処理し、濾過し、標記化合物(0.65g、65%)を得た：MS(DCl/NH₃) 320 [M+H]。

(v) N-[4-(アミノイミノメチル)ヒドラゾノ]ブタノイル]-N-メチル-γ-グルタミン

実施例11(iv)の化合物(0.5g、2.6ミリモル)、炭酸カリウム(0.36g、2.6ミリモル)、水(2ml)およびテトラヒドロフラン(5ml)を一夜攪拌した。混合物を濾過し、水に溶かし、そのpHを1N塩酸で6に調整した。混合物を濾過し、残渣をトルエンで処理し、濾過し、標記化合物(0.3g、50%)を得た：TLC Rf 0.13(シリカ、ジクロロメタン)：メタノール：酢酸 9:1:1；MS(DCl/NH₃) 230 [M+H]。

(vi) N-[N-[4-(アミノイミノメチル)ヒドラゾノ]ブタノイル]-N-メチル-γ-グルタミン]-3-(2-ベンゾチアゾリル)-β-アラニンシクロヘキシルエステル

実施例11(v)の化合物(0.4g、1.7ミリモル)、実施例9(i)の化合物(0.53g、1.7ミリモル)、1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩(0.33g、1.7ミリモル)、ジソブ

ロピルエチルアミン(0.7ml、7.3ミリモル)および1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(0.23g、1.7ミリモル)のジメチルホルムアミド(30ml)中混合物を室温で一夜攪拌した。ジオキサンの塩化水素をpH5まで加え、つづいてジシクロヘキシルカルボジイミド(0.35g)を加えた。該混合物を一夜攪拌し、濾過し、水で希釈し、ジクロロメタンで抽出した。有機相を乾燥し、濾過し、残渣をクロマトグラフィー(シリカゲル、10%メタノール/ジクロロメタン)および薄層クロマトグラフィー(シリカゲル)に付し、標記化合物(50mg、15%)を得た：MS(ESI) 516 [M+H]。

(vii) N-[N-[4-(アミノイミノメチル)ヒドラゾノ]ブタノイル]-N-メチル-γ-グルタミン]-3-(2-ベンゾチアゾリル)-β-アラニン
テトラヒドロフラン(5ml)およびメタノール(5ml)に溶かし、実施例11(vi)の化合物(30mg、0.06ミリモル)を水中にて炭酸カリウム(12mg)で処理し、一夜攪拌した。混合物を濾過し、残渣をHPLC(Dynamax, 勾配 A:アセトニトリル B:水/0.1%トリフルオロ酢酸、13~50%)

アセトニトリル)により精製し、凍結乾燥して標記化合物(1.4mg)を得た：MS(ESI) 434 [M+H]。

実施例12

シクロ-(S, S)-(2-メルカプト)ベンゾイル-(N'-メチル)-4-アミノメチル-フェニルアラニル-グリシル-アスパラチル-(2-メルカプト)-フェニルアミド[シクロ-(S, S-Mba-MeAmf-Gly-Asp-Man)]
(1) N'-tert-ブチルオキシカルボニル-N'-メチル-p-ヨードフェニルアラニン

カナディアン・ジャーナル・オブ・ケミストリー(Can. J. Chem.) 55, 906(1977)に記載の方法と同様により、N'-tert-ブチルオキシカルボニル-p-ヨードフェニルアラニンをN'-tert-ブチルオキシカルボニル-N'-メチル-p-ヨードフェニルアラニンに変えた。

(ii) N'-tert-ブチルオキシカルボニル-N'-メチル-4-アミノメチル

フエニアラニン

シンセティック・コミュニケーションズ (Syn. Commun.) 21, 2103 (1991) に記載の方法と同様に、 N^{α} -tert-ブチルオキシカルボニル- N^{α} -メチル-p-ヨードフエニアラニンを N^{α} -tert-ブチルオキシカルボニル- N^{α} -メチル-4-アミノメチル-フエニアラニンに変えた。

(iii) N^{α} -tert-ブチルオキシカルボニル- N^{α} -メチル-4-CBZ- α -ミノメチル-フエニアラニン

ジャーナル・オブ・アメリカン・ケミカル・ソサイエティー (J. Am. Chem. Soc.) 76, 5552 (1954) に記載の方法と同様に、 N^{α} -tert-ブチルオキシカルボニル- N^{α} -メチル-4-アミノメチル-フエニアラニンを N^{α} -tert-ブチルオキシカルボニル- N^{α} -メチル-4-CBZ- α -ミノメチル-フエニアラニンに変え、標記化合物を得た。¹H NMR (CDCl₃, 360 MHz) δ

1. 1-1.4 (d, 9H), 2. 6-2.7 (d, 3H), 2. 8-3. 3 (br, 3H), 4. 2-4.4 (d, 2H), 4. 4-4.6, 4. 7-4.9 (br, 1H), 5. 0-5.2 (s, 2H), 6. 9-7.4 (br, 9H), 9. 4-9.7 (br, 1H); MS (ES) m/e 443. 2 [M+H]⁺; HPLC k' 12. 7 (5 μ Altex Ultrasphere ODS, 4. 5mm \times 25 cm, 勾配, A: アセトニトリル B: 水=0. 1% トリフルオロ酢酸, 5% ~50% アセトニトリル (20分), UV検出 (220nm)); $[\alpha]_D^{25}$ c 3.0, CHCl₃。

(iv) Boc-Asp (O-cHex) -Man (4-MBzl)

Boc-Asp (O-cHex) (31. 5g, 100, ミリモル) のTHF (500 ml) およびN-メチルモルホリン (13. 1g, 120ミリモル) 中冷却溶液に、イソブチルクロロホルマート (15. 6ml, 1. 2ミリモル) を滴下した。反応混合物を2ないし3分間攪拌し、Man (4-MBzl) (22. 0g) 96ミリモル) のTHF (500 ml) 中溶液を加えた。反応混合物を室温に加

温し、18時間攪拌した。反応終了後、反応混合物を濾過し、濾液を蒸発乾固した。残渣を酢酸エチル (500 ml) に溶かし、5% 水性クエン酸 (3 \times 150 ml)、水 (1 \times 400 ml)、10% 水性NaHCO₃ (1 \times 400 ml)、水 (1 \times 400 ml) および飽和塩溶液 (1 \times 300 ml) で連続的に洗浄した。該溶液を乾燥 (無水K₂CO₃) し、濾過し、濃縮して標記化合物 (53 g) を得た。

(v) Asp (O-cHex) -Man (4-MBzl)

Boc-Asp (O-cHex) -Man (4-MBzl) (52g) を50% TFA/塩化メチレンで室温で45分間処理した。溶液を蒸発させ、塩化メチレンで数回追跡し、微量のTFAを排除した。エーテルを添加すると、生成物はそのTFA塩として沈殿した。固体を収集し、風乾して白色固体 (46. 7g, 88%) を得た。

(vi) Boc-Gly-Asp (O-cHex) -Man (4-MBzl)

Asp (O-cHex) -Man (4-MBzl) (46. 7g, 86. 4ミリモル) のDMF (100 ml) 中冷却溶液に、ジイソプロピルエチルアミン (15 ml, 86. 1ミリモル) を加えた。N-ヒドロキシベンゾトリアゾール (14. 0g, 104ミリモル) を加え、つづいてBoc-Gly (16. 6g) 94. 8ミリモル) を加えた。反応混合物を2ないし3分間冷却下にて攪拌し、N-エチル-N-(ジメチルアミノ)プロピル) カルボジイミド (18. 2g, 94. 9ミリモル) を加えた。反応混合物を室温に加熱し、18時間攪拌した。反応混合物を少量にまで濃縮し、10% K₂CO₃水溶液 (1. 5 L) 中に注いだ。沈殿生成物を濾過により収集し、中性pHまで水洗し、標記化合物 (50. 6g) を得た。

(vii) Gly-Asp (O-cHex) -Man (4-MBzl)

実施例12 (vi) の化合物 (11. 7g, 20ミリモル) を実施例4 (b) に記載されているように50% TFA/CH₂Cl₂ (80 ml) で処理し、標記化合物12. 4gを得た。

(viii) Boc-Me-Amf (cBZ) -Gly-Asp (O-cHex) -Man (4-MBzl)

実施例12 (vii) の化合物を実施例12 (iii) の化合物とカップリングさせ

て標記化合物を得た。

(ix) MeAmf (cBZ) - Gly-Asp (O-cHex) - Man (4-MBzl)

実施例12 (viii) の化合物を、実施例12 (v) の記載に従って、50% TFA/CH₂Cl₂ で処理し、標記化合物のTFA塩を得た。

(x) Mba (SEt) MeAmf (cBZ) - Gly-Asp (O-cHex) - Man (4-MBzl)

化合物12 (ix) を実施例12 (vi) と同様にしてMba (SEt) にカップリングさせ、標記化合物を得た。

(xi) シクロ- (S, S) -Mba MeAmf-Gly-Asp-Man

実施例12 (x) の保護線状ペプチド (0.25g, 0.25ミリモル) を無水HF (10ml) およびアニソール (1ml) で0℃で1時間処理した。HFを真空中0℃で除去し、残渣をエーテルで洗浄し、黄褐色固体 (0.116g) を得た。フラッシュクロマトグラフィー (中圧ODS逆相カラム, 25%アセトニトリル/H₂O-0.1%TFA) により精製し、精製物質 (0.069) を得た: MS (ES) m/e 622 [M+N] HPLC R_f 9.1 (Altex Ult rasphereODS, 4.5mm×25cm, 勾配A:アセトニトリル B:水-0.1%トリフルオロ酢酸, 10-50%アセトニトリル (20分以上), 220nm)。

実施例13

非経口用投与単位組成物

滅菌乾燥粉末として実施例4の化合物 (20mg) 含有の調製物を以下のよう
に調製する: 化合物 (20mg) を蒸留水 (15ml) に溶かす。該溶液を滅菌
条件下で25mlの複数回投与用アンブルに濾過し、凍結乾燥した。該粉末を部
脈内または筋肉内注射用の5%デキストロス/水 (D5W) (20ml) を加
えることで復元する。投与量は注射容量により決定される。その後、計量したこ
の投与単位を別の注射用D5Wに加えることにより希釈を行ってもよく、または
計量した投与量を部脈内滴剤注入用のボトルまたはバックもしくは他の注射-注
入系のような薬剤を分散するための別の装置に充填してもよい。

実施例14

経口用投与単位組成物

経口投与用カプセル剤を、実施例4の化合物 (50mg) をラクトース (75mg) およびステアリン酸マグネシウム (5mg) と混合し、粉砕することにより調製する。得られた粉末をスクリーンに付し、硬ゼラチンカプセルに充填する。

実施例15

経口用投与単位組成物

経口投与用錠剤を、シュクロース (20mg)、硫酸カルシウム・2水和物 (150mg) および実施例4の化合物 (50mg) を、10%ゼラチン溶液と混合し、造粒することにより調製する。その湿式顆粒をスクリーンに付し、乾燥し、澱粉 (10mg)、タルク (5mg) およびステアリン酸 (3mg) と混合し、打錠する。

前記の製造法および使用法は本発明を説明する。しかしながら、本発明は、本明細書に記載されているその具体例に限定されるものではなく、以下の請求の範囲内にある修飾をすべて包含するものである。

フロントページの続き

(51) Int. Cl. *	識別記号	片内整理番号	F I
A 61 K 31/44	A C B	9454-4C	
	38/00		
C 07 D 213/75		9164-4C	
	235/30	Z 7019-4C	
	277/64	9283-4C	
	417/12	2 3 3 7602-4C	
C 07 K 5/087			
	5/11	8318-4H	
(72)発明者	コーラン、ジェームズ・フランシス		
	アメリカ合衆国ペンシルベニア州19111、		
	フィラデルフィア、ジーンズ・ストリート		
	8214番		
(72)発明者	ハフマン、ウィリアム・フランシス		
	アメリカ合衆国ペンシルベニア州19355、		
	マルバーン、クレスト・アベニュー40番		
(72)発明者	キーナン、リチャード・マックローチ		
	アメリカ合衆国ペンシルベニア州19355、		
	マルバーン、バス・コート796番		
(72)発明者	メトカルフ、ブライアン・ウォルター		
	アメリカ合衆国ペンシルベニア州19087、		
	ラドナー、ウッドランド・ドライブ520番		
(72)発明者	サマネン、ジェームズ		
	アメリカ合衆国ペンシルベニア州19461、		
	フェニックスビル、ジャグ・ハローウ・ロ		
	ード (番地の表示なし)		
(72)発明者	イエリン、トビアス・オレゴン		
	アメリカ合衆国ペンシルベニア州19085、		
	ゲイラノバ、オーリオル・レーン517番		

THIS PAGE BLANK (USPTO)

特表平8-505816

〔公報別刷〕特許法第 17 条第 1 項及び特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載
〔部別区分〕第 3 部別第 2 区分
〔発出年月日〕平成 13 年 6 月 12 日 (2001. 6. 12)

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

THIS PAGE BLANK (USPTO)